

На правах рукописи



Алексеев Станислав Иванович

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА С КОЖЕЙ: ФИЗИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ**

03.01.02 – "биофизика"

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

4 АПР 2013



Пушкино – 2013

005051492

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
Институте биофизики клетки Российской академии наук и Тимп университет
(Филадельфия, США).

Научные консультанты:

Член-корр. РАН, д.б.н., профессор

Фессенко Евгений Евгеньевич

Профессор

Зискин Марвин С.

Официальные оппоненты:

Чемерис Николай Константинович - доктор биологических наук, профессор, Федеральное
государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки Российской
академии наук, г.и.с. лаборатории клеточной нейробиологии

Бецкий Олег Владимирович - доктор физико-математических наук, профессор,
Фрязинский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института радиотехники и электроники им. В.А.Котельникова Российской академии наук,
заведующий лабораторией радиофизических свойств плазмы

Лебедева Наталия Николаевна - доктор биологических наук, профессор, Федеральное
государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и
нейрофизиологии Российской академии наук, заведующая лабораторией прикладной
физиологии высшей нервной деятельности человека

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и
экспериментальной биофизики Российской академии наук.

Запись диссертации состоится "6" июня 2013 г. в 14.00 часов
на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д002.038.01 при
Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биофизики клетки
Российской академии наук по адресу:
142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной библиотеке НЦБИ РАН
по адресу: 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 3.

Автореферат разослан "11" марта 2013.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук

Смолихина Татьяна Ивановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время растет применение миллиметровых волн (ММВ) в технике и военных целях, а также в медицине. Электромагнитные излучения различной частоты широко используются для коммуникации, телевидения, радиолокации, радионавигации и т.д. Низкоинтенсивные ММВ в частотном диапазоне 57-64 ГГц выбраны для высокоскоростной передачи данных (более 2 Гб/с) на коротком расстоянии. Разрабатывается новое поколение коммерческих телекоммуникационных систем, работающих в диапазоне частот ММВ (например, HD₂ система). Внедряется нелетальное оружие, основанное на быстром нагреве кожи до болевой температуры во время облучения мощным лучом ММВ. Поэтому вопросы определения безопасных норм ММВ-облучения для населения и технического персонала, основанных на надежных результатах по исследованию биологических эффектов ММВ, представляют собой важную проблему.

Низкоинтенсивные ММВ широко внедрились в медицинскую практику еще в СССР и в настоящее время используются как перспективное физиотерапевтическое средство при лечении различных заболеваний [Девятков и Бецкий, 1987; Девятков и др., 1991; Бецкий, 1993; Rojavin and Ziskin, 1998]. Терапевтическое применение ММВ основывается главным образом на эмпирических результатах, найденных в клинических условиях. Исследование биологических эффектов ММВ, несмотря на многочисленные публикации, носит несистемный характер, первичные механизмы действия ММВ изучены слабо. Очевидно, что для широкого внедрения ММВ-терапии в клиническую практику не только у нас в стране, но и в западных странах, необходимо теоретическое и экспериментальное обоснование механизмов действия ММВ на всех уровнях биологической организации организма.

Одним из наиболее изученных системных эффектов ММВ является их обезболивающее действие [Rojavin and Ziskin, 2000; Самосюк и др., 2000; Radzievsky et al., 2008]. Показано, что максимальный обезболивающий эффект достигается при облучении наиболее плотно иннервированных участков тела животных- носа и лапы. При перерезке седалищного нерва обезболивающий эффект облучения полностью устраняется. Эти результаты прямо указывают на участие в обезболивающем эффекте ММВ периферической нервной системы. Очень важным шагом в понимании механизма действия ММВ было обнаружение участия эндогенных опиоидов в обезболивающем эффекте ММВ. Показано, что облучение ММВ вызывает значительное увеличение концентрации агониста δ-рецепторов- энкефалина- в стволе головного мозга и в гипоталамусе. Таким образом, стимуляция нервных окончаний и рецепторов кожи при облучении ММВ приводит к системному эффекту с участием периферической и центральной нервных систем.

О возможном вовлечении нервной системы в системные эффекты ММВ свидетельствуют результаты ряда независимых исследований, проведенных Н.Н. Лебедевой [Лебедева, 1993; 1994; 1998] и Е.А. Корневой с сотрудниками [Новикова и др., 2008а,б]. В работах Лебедевой Н.Н. показано, что человек способен к восприятию облучения ММВ в виде сенсорных ощущений. Комбинированное действие ММВ-облучения и болевого раздражения приводило к снижению количества c-Fos положительных клеток, активированных в гипоталамусе в результате болевого раздражения [Новикова и др., 2008а,б]. Приведенные результаты наряду с другими опубликованными данными указывают на то, что нервный путь реализации некоторых биологических эффектов ММВ может быть более предпочтительным, чем гуморальный с вовлечением иммунной системы [Гапеев, 2006].

Несмотря на значительный прогресс в исследованиях гипоалгезического действия ММВ, до сих пор остаются невыясненными механизмы рецепции ММВ в коже. Неизвестны типы рецепторов, возбуждаемых облучением, и пути проведения возбуждения от рецепторов до нейронов в спинномозговом узле. Отсутствуют данные о первичных механизмах действия ММВ на уровне возбудимых клеток и клеточных мембран, приводящих к стимуляции

кожных рецепторов. Очевидно, что для выяснения механизмов рецепции ММВ в коже необходимо провести прямые эксперименты по выявлению типа рецепторов и их нервных волокон, отвечающих на стимуляцию ММВ, пороги ответов и, по возможности, определить первичные механизмы стимуляции ММВ.

Важным аспектом физического взаимодействия ММВ с кожей является получение точных знаний о распределении интенсивности ММВ в различных слоях кожи, необходимых для адекватной дозиметрии ММВ и гигиенического нормирования. Определение скорости нагрева и распределения температуры в коже при облучении различными антеннами играет важную роль в оценке теплового механизма действия ММВ. Поскольку ММВ поглощаются в поверхностных слоях кожи, то гетерогенные диэлектрические свойства кожи и ее структур могут сильно влиять на распределение компонент электромагнитного поля и плотности мощности в коже. К сожалению, большая часть литературных данных получена при рассмотрении кожи как гомогенной структуры и не дает реальных оценок распределения интенсивности ММВ в разных слоях кожи и в ее структурах. Нагревы кожи и ее слоев под действием локального облучения терапевтическими аппаратами ММВ в литературе не освещались.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является исследование взаимодействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона с кожей, которое включает изучение как физических аспектов, так и эффектов излучения на периферическую нервную систему и ее элементы.

Задачи исследования:

1. Найти оптимальные условия ММВ-облучения биологических растворов;
2. Определить диэлектрические свойства разных слоев кожи;
3. Рассчитать распределение плотности мощности ММВ в разных слоях кожи и расположенных в них электрически неоднородных структурах (придатки, кровеносные сосуды);
4. Измерить экспериментально и рассчитать теоретически нагрев кожи при локальном облучении в частотном диапазоне ММВ;
5. Провести исследование влияния миллиметровых и дециметровых волн на бислойные липидные мембранны и ионные токи нейронов;
6. Выяснить механизмы действия ММВ на электрическую активность пейсмекерных нейронов;
7. Исследовать влияние ММВ на кожные рецепторы, иннервированные седалищным нервом;
8. Выяснить роль периферических нервов в обезболивающем эффекте ММВ.

Научная новизна. В работе впервые получены следующие результаты:

1. Определены диэлектрические свойства разных слоев кожи.
2. Рассчитаны глубина проникновения ММВ в многослойную кожу и распределение плотности мощности в разных слоях кожи.
3. Показано, что наличие в растворе и коже объектов и структур с электрическими свойствами, отличными от среды (термопара, пузырек воздуха в растворе, пора или волос в коже), приводит к заметному искажению распределения Е-поля и удельной поглощаемой мощности (УПМ) в области расположения этих объектов и структур. На границе раздела между объектом и средой возникают высокие градиенты Е-поля.
4. На основе теоретического анализа выяснено, что селективное поглощение энергии ММВ осуществляется кровеносными сосудами кожи, ориентированными параллельно Е-полю. В кровеносных сосудах мышей, пронизывающих нормально жировой слой и ориентированных параллельно Е-полю, имеет место значительное поглощение энергии ММВ, которое может более чем в 30 раз превышать УПМ в окружающей ткани.
5. Показано, что локальный нагрев кожи падает с уменьшением размеров луча, излучаемого антенной, с увеличением перфузии крови и с уменьшением частоты облучения. На основе теоретического анализа различных моделей теплопроводности выяснено, что

экспериментальные данные по нагреву кожи наилучшим образом описываются с помощью гибридного уравнения биотеплопроводности. Несмотря на то, что ММВ поглощаются в тонком слое кожи ($\delta \sim 0,6$ мм при 42 ГГц), тепло проникает глубоко в ткань, достигая мышцы.

6. Предложен новый метод определения диэлектрических свойств кожи и фантомов, основанный на измерении кинетики нагрева во время ММВ-облучения.

7. Наиболее практичным методом в дозиметрии ММВ является определение УПМ по начальной скорости нагрева кожи. Для точного определения УПМ необходимо экспериментальную кинетику аппроксимировать гибридным уравнением биотеплопроводности.

8. Показано, что изменения смыкости и проводимости бислойных липидных мембран (БЛМ) в отсутствие или в присутствии модификаторов не зависят от частоты облучения в диапазоне 54-76 ГГц и вызваны тепловым действием ММВ. Изменения параметров токов потенциалозависимых быстрых калиевых и кальциевых каналов в нейрональных мембранах, вызванные ММВ-облучением, также объясняются тепловым эффектом ММВ.

9. Выявлен хорошо воспроизводимый эффект микроволнового облучения (0,9 ГГц) на проводимость модифицированных БЛМ. Резкое изменение проводимости БЛМ объясняется повышенной концентрацией Е- поля и УПМ в мембраноформирующем отверстии в тefлоновой перегородке, и как следствие, значительным повышением температуры в этом отверстии.

10. Показано, что скорость роста температуры при ММВ-облучении играет определяющую роль в эффекте торможения электрической активности (ЭА) пейсмекерного нейрона прудовика.

11. Показано, что ММВ-облучение лапы мышей приводит к эффекту гипоалгезии. Деиннервация облучаемой лапы путем перерезки седалищного нерва вызывает полное устранение эффекта гипоалгезии, тем самым демонстрируя участие в эффекте гипоалгезии периферической нервной системы.

12. Выявлены два типа эффектов ММВ на ЭА икроножного нерва мыши при облучении лапы в рецептивном поле нерва. Во-первых, облучение рецептивного поля нерва приводит к торможению ЭА. Во-вторых, непосредственно после выключения облучения наблюдается динамическое увеличение ЭА. Эффект торможения ЭА объясняется ответом холодовых рецепторов на нагрев рецептивного поля нерва. Статистически достоверное торможение ЭА наблюдается при облучении с интенсивностями, вызывающими гипоалгезию, т.е. в первичной рецепции ММВ-облучения могут участвовать холодовые рецепторы кожи. Механизм, лежащий в основе эффекта динамического увеличения ЭА, не укладывается в рамки теплового. Предполагается, что в основе этого эффекта лежит дегрануляция тучных клеток.

Научно-практическое значение. Результаты исследований носят фундаментальный характер и направлены на выяснение механизмов физического взаимодействия электромагнитных излучений миллиметрового диапазона с кожей и роли периферической нервной системы и ее компонент в системных эффектах ММВ. Определены диэлектрические свойства разных слоев кожи, и рассчитано распределение плотности мощности в многослойной модели кожи и ее структурах (придатки и кровеносные сосуды). Проведено теоретическое и экспериментальное исследование нагрева кожи при локальном облучении терапевтическими аппаратами. Раскрыты механизмы действия ММВ на периферическую нервную систему на уровне кожных рецепторов и их моделей. Полученные результаты дают научное обоснование применению ММВ в медицине для подавления боли и могут быть использованы для усовершенствования дозиметрических подходов в клинической практике и принципов гигиенического нормирования.

Апробация работы. Результаты работы были представлены в виде докладов на семинарах и научных конференциях Института биофизики клетки, на следующих внутренних и международных симпозиумах и конференциях: International Symposium On "Electromagnetic Waves and Biology", Paris, France, June 30-July 4, 1980; Summer Course on

Non-Ionizing Electromagnetic Irradiation, Prague, Czechoslovakia, 1980; Первый Всесоюзный Биофизический конгресс, Москва, СССР, 1982; Первый Всесоюзный симпозиум "Биологические эффекты и электромагнитные поля", Пущино, СССР, 1982; XII Всесоюзное совещание по транспортным АТФазам "Ионный гомеостаз и влияние факторов внешней среды на жизнедеятельность клетки", Иркутск, Июль 14-17, 1987; Симпозиум "Механизмы биологических эффектов ЭМИ", Пущино, СССР, октябрь 27-31, 1987; VII Всесоюзный семинар "Применение КВЧ-излучения низкой интенсивности в биологии и медицине", Звенигород, СССР, 13-15 ноября, 1989; Международный симпозиум «Методология использования биотропных и силовых свойств магнитных полей в практике здравоохранения», Ташкент, 1989; International Congress on "Molecular Changes Produced by Microwaves", Vienna, Austria, 1990; Международный симпозиум "Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине", Москва, СССР, Октябрь 3-6, 1991; First World Congress on "Electricity and Magnetism in Biology and Medicine", Florida, USA, 1992; Seventeenth Annual Meeting of BEMS, Boston, MA, June 18-22, 1995; Forth Annual Neuropharmacology Conference on "Potassium Channels", Washington, DC, November 14-16, 1996; Workshop on Infrared Lasers and Millimeter Waves, Brooks Air Force Base, Texas, January 21-22, 1997; 11-ый Российский симпозиум с международным участием "Миллиметровые волны в биологии и медицине", Москва, Апрель 21-24, 1997; Первый международный симпозиум «Фундаментальная наука и альтернативная медицина», Пущино, 22-25 сентября, 1997; Annual Meeting of Professional Scientific Research Scientists "Experimental Biology - 98", San Francisco, April 19-22, 1998; Twenty-first Annual Meeting of BEMS, Long Beach, CA, June 20-24, 1999; 2-nd International Congress: "Problems of electromagnetic safety of the human being. Fundamental and applied research. Development of EMF standards: Philosophy, Criteria and Harmonization". Moscow, Russia, September 20-25, 1999; Twenty-Second Annual meeting of BEMS, Munich, Germany, June 11-16, 2000; Twenty-Third Annual meeting of BEMS, St. Paul, Minnesota, June 10-14, 2001; Twenty-Fourth Annual meeting of BEMS, Quebec City, Quebec, Canada, June 23-27, 2002; Twenty-Fifth Annual Meeting of BEMS, June 22-27, Maui, Hawaii, 2003; Presentation at U.S. Air force laboratory workshop: "Measuring and modeling thermal responses to directed energy exposure", Twenty-sixth Annual Meeting of BEMS, June 20-24, Washington, D.C. 2004; Twenty-eighth Annual Meeting of BEMS, June 11-15, Cancun, Mexico, 2006; Thirtieth Annual Meeting of BEMS, June 9-12, San Diego, California, 2008; The 32nd PIERS Symposium, Moscow, Russia, August 19-23, 2012.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 52 статьи в рецензируемых журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из разделов "Введение", четырех глав "Обзор литературы", "Материалы и методы исследований", "Результаты исследований и обсуждение", "Заключение", "Выводы", "Список литературы". Работа изложена на 284 страницах, содержит 144 рисунка и 23 таблицы, список цитируемой литературы включает 562 наименования.

Список основных сокращений. ЭМП - электромагнитное поле, ЭМИ - электромагнитное излучение, ММВ - миллиметровые волны, ДМВ - дециметровые волны, ППМ - плотность потока мощности, УПМ - удельная поглощаемая мощность, КСВ - коэффициент стоячей волны, ОКВ- открытый конец волновода, ЛДФ- лазерный допплеровский флюуметр, ТП- термопара, ОДП- отношение диэлектрических проницаемостей; БЛМ - бислойная липидная мембрана, ЦНС - центральная нервная система, ЭА - электрическая активность, ПД- потенциал действия, СО- стандартное отклонение, СОС- стандартная ошибка среднего, УБТ- уравнение биотеплопроводности, ГУБТ- гибридное уравнение биотеплопроводности, БАТ- биологически активные точки, СНО- свободные нервные окончания.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Во введении сформулированы актуальность работы, ее цели и задачи.

Глава 1. Обзор литературы. В данной главе на основе анализа 562 публикаций обобщены известные материалы по исследованию взаимодействия ММВ с кожей, т.е. данные по отражению, поглощению и нагреву кожи ММВ. Кратко рассмотрены современные представления о строении и функциях кожи. В обзоре приведены данные о наиболее изученном эффекте ММВ - гипоалгезии. Поскольку в эффекте гипоалгезии задействована нервная система, то в обзоре подробно описаны эффекты ММВ на нервную систему и ее компоненты на уровне нервных волокон, кожных рецепторов, нейронов и мембран. Проанализирована взаимосвязь между нервной и иммунной и эндокринной системами и влияние ММВ на эти системы. Подробно рассмотрены эффекты ММВ на клетки кожи и крови, как возможные первичные рецепторы ММВ-облучения. Обсуждаются первичные механизмы действия ММВ, наиболее часто используемые в литературе для объяснения различных биологических эффектов ММВ. В кратком заключении к данной главе подводится итог современному состоянию проблемы.

Глава 2. Материалы и методы исследования. В данной главе изложены методы проведения экспериментов и теоретических расчетов, использованных в работе.

Биологические объекты и добровольцы. Все исследования с использованием лабораторных животных и с участием добровольцев выполнены в Темпл университете (Филадельфия, США). В экспериментах по исследованию отражения ММВ от кожи и нагрева кожи при облучении ММВ участвовало в общей сложности 22 добровольца, средний возраст которых был 52 года: 14 добровольцев мужского пола и 8 – женского. Исследования с участием добровольцев проводили после одобрения протокола опытов местным Institutional Review Board.

Исследования с участием лабораторных животных выполнены с использованием взрослых мышей-самцов Swiss Webster (масса 20-25 г) и мышей- самок SKH1 без волосяного покрова (масса 22-25 г). Эксперименты с участием мышей проведены в условиях анестезии, которая осуществлялась внутрибрюшинной инъекцией смеси кетамина (95 мг/кг), ксилазина (10 мг/кг) и ацепромазина (0,7 мг/кг). Все проводимые процедуры были одобрены местным комитетом по содержанию и использованию лабораторных животных.

Исследования действия ЭМИ ММВ на ЭА и ионные токи возбудимых клеток выполнены на нейронах ЦНС прудовика *Limnaea Stagnalis*.

Аппаратное обеспечение экспериментов. В качестве основных источников ММВ использовались генераторы сигналов Г4-141 (диапазон рабочих частот 37,50-53,57 ГГц) и Г4-142 (53,57-78,33 ГГц) ("Исток", Фрязино, Россия). Спектральные характеристики генераторов контролировались спектр -анализатором Hewlett – Packard, model HP-8560T (Melrose, MA, USA). Выходная мощность генераторов измерялась с помощью ваттметра Anritsu ML4803A (Anritsu Corporation, Tokyo, Japan). В экспериментах с модуляцией использовались либо собственные модуляторы генераторов, либо внешние модуляторы, сконструированные в лабораторных условиях. В ряде исследований в качестве дополнительного источника ММВ использовали терапевтический аппарат Явь-1 (42,25 ГГц). Пирамидальная рупорная антенна, используемая в этих аппаратах в качестве излучателя, имела апертуру размером 10x20 мм и коэффициент усиления 19 дБ. Излучателями при работе с генераторами Г4-141 и Г4-142 служили открытые концы волноводов (ОКВ) без фланцев с поперечным сечением 5,2x2,6 и 3,6x1,8 мм, соответственно, и рупорные антенны от аппаратов Явь. Источником дециметровых волн (ДМВ) служил лабораторный генератор (0,9 ГГц) с амплитудным модулятором и выходной мощностью до 25 Вт.

Методы измерения отражения ММВ. У человека отражение ММВ измерялось в области предплечья и ладони, имеющих кожу с тонким и толстым роговым слоем, соответственно. У мышей, для измерения отражения использовались части тела с относительно плоской поверхностью: область спины и боковая сторона задней лапы. За день до экспериментов эти области были гладко побриты. Для измерения отражения ММВ от кожи, гелей и воды использовали два метода: метод непосредственного измерения отраженной мощности от объектов с помощью направленного ответвителя и метод индикации КСВ. Отражение от кожи определялось в широком частотном диапазоне 37.5-78.0 ГГц. При измерении отражения открытый конец секции волновода, присоединенного либо к основному выходу ответвителя, либо к индикатору КСВ, приводился в касание с объектом (кожа, гель, фантом) с умеренной силой. В этом случае можно считать, что взаимодействие электромагнитной волны с кожей происходит в волноводе, а не в открытом пространстве. Следует отметить, что коэффициенты отражения по мощности, измеренные с помощью индикатора КСВ или направленного ответвителя, были в хорошем согласии друг с другом.

Модели кожи и определение диэлектрических свойств разных слоев кожи. Для адекватной дозиметрии ММВ в коже большое значение имеет точное знание диэлектрической проницаемости и проводимости кожи. Эти характеристики хорошо известны для гомогенной модели кожи и мало изучены для многослойной модели кожи. В настоящей работе электрические свойства разных слоев кожи были определены, используя результаты измерения отражения ММВ от кожи. Метод определения диэлектрической проницаемости кожи, примененный в данной работе, отличается от традиционных. Хорошо известно, что частоты релаксации всех компонент биологической ткани (липиды, белки, связанная вода и т.д.), за исключением свободной воды, лежат ниже 5 ГГц [Grant, 1982; Gandhi and Riazi, 1986; Foster and Schwan, 1986; Gabriel et al., 1996]. Поэтому диэлектрическая проницаемость биологической ткани, включая кожу, в диапазоне ММВ определяется диэлектрической проницаемостью «свободной воды», т.е. той фракции воды, которая не связана с различными компонентами ткани или кожи. Поскольку комплексная диэлектрическая проницаемость воды хорошо описывается уравнением Дебая с одним временем релаксации, то и комплексные диэлектрические проницаемости разных слоев кожи ϵ^* , были описаны уравнениями Дебая:

$$\epsilon_i^* = \epsilon_{\infty} + \frac{\Delta\epsilon_i}{1+j\omega\tau} + \frac{\sigma_i^{\text{ion}}}{j\omega\epsilon_0}$$

где $\omega=2\pi f$, f - частота в Гц, $j=\sqrt{-1}$, $\Delta\epsilon_i=\epsilon_{\text{si}}-\epsilon_{\text{oi}}$ - магнитуда дисперсии фракции свободной воды i -го слоя кожи, ϵ_{si} - проницаемость i -го слоя кожи при $\omega\tau \ll 1$, ϵ_{oi} - оптическая проницаемость, $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м, σ_i^{ion} - ионная проводимость слоя кожи. Параметры

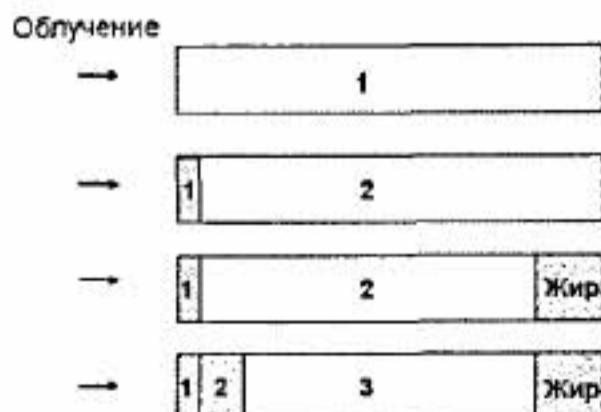


Рис. 1. Модели кожи, использованные для аппроксимации экспериментальных данных по отражению. Модель 1 - гомогенная кожа. В моделях 2-3: 1- роговой слой; 2 - сумма жизнеспособного эпидермиса и дермы. В модели 4: 1 и 2 - внешний и внутренний роговые слои в коже ладони, соответственно; 3-жизнеспособный эпидермис + дерма. Модели 3 и 4 содержат подкожный жировой слой. Последние слои во всех моделях являются полубесконечными средами.

уравнения Дебая определялись для температуры 32,6°C, средней на глубине кожи 1 мм [Alekseev et al., 2005]. Для описания отражения ММВ от кожи человека были использованы 4

модели, включающие однослойную гомогенную модель, двух- трех- и четырехслойные модели (рис. 1). Отражения ММВ от кожи мышей описано с использованием двух моделей: однослойной гомогенной и четырехслойной моделей. Последняя состояла из рогового слоя, суммы жизнеспособного эпидермиса и дермы, жирового слоя и мышцы. Подставляя комплексную дизэлектрическую проницаемость в уравнения Френеля для многослойных структур, определялись дизэлектрическая проницаемость и толщина каждого слоя кожи.

Методы расчетов распределения Е- поля и УПМ в области дизэлектрической неоднородности в среде. Для расчетов распределения Е- поля и УПМ в растворе (термопара, пузырек воздуха) и коже (потовая пора, волос, кровеносный сосуд) были использованы как аналитические, так и цифровые методы решения соответствующих уравнений электродинамики. Профили ППМ и УПМ (J) в гомогенной полубесконечной модели кожи были получены с помощью экспоненциального закона Ламберта-Бера. Аналитические решения использовались только для простейших систем и в тех случаях, когда были применимы условия квазистатического приближения. Были использованы аналитические решения уравнений Лапласа для цилиндра и сферы, помещенные в поглощающие среды (вода, кожа) [Jackson, 1975]. Поскольку аналитическое решение уравнений Максвелла для сложных систем в большинстве случаев было невозможно, то в таких случаях мы использовали цифровые методы решения этих уравнений. Были использованы как двухмерный импедансный метод, так и трехмерный метод конечных разностей во временной области или finite difference time domain (FDTD) метод. Двухмерный импедансный метод был использован для расчетов распределения Е- поля и УПМ в растворе в области расположения термопары и пузырька воздуха, а также в коже в области потовой поры и волоса. С помощью FDTD метода были рассчитаны распределения Е- поля и УПМ в кровеносных сосудах, расположенных в дерме человека и мыши и в жировом подкожном слое мыши. Мы также рассчитали распределения Е- поля и УПМ в модели термопары на поверхности кожи и в мембраноформирующих отверстиях в тefлоновой перегородке. Для сравнения результатов, полученных при разных условиях облучения, УПМ и Е- поле в объектах (кровеносный сосуд, придатки и т.д.) нормировались делением их значений на соответствующие величины УПМ и Е- поля в среде, расположенной достаточно далеко от объекта, где сохранялось однородное невозмущенное поле.

Методы измерения температуры в растворе и коже во время облучения ММВ. В большинстве экспериментов температуру измеряли либо с помощью ИК камеры Amber 4256 (Amber Engineering, Inc., Goleta, CA), либо термопары (медь-константан) с устройством IT-23 (Sensortek, Inc., Clifton, NJ, USA). ИК камера с температурной чувствительностью около $0,06^{\circ}\text{C}$ имела спектральное окно в области 3-5 μm . Перед измерениями ИК камера калибровалась по двум точкам, используя два черных тела как источники независимых ИК излучений при двух температурах (Model 320, Mikron Instruments Co., Wycoff, NJ, USA). С помощью ИК камеры регистрировались распределения температуры и скорости роста температуры на поверхности объекта. В экспериментах по определению дизэлектрических свойств кожи и фантомов, основанному на измерении кинетики нагрева, была использована ИК камера FLIR SC5000 (FLIR Systems, USA). Камера оперирует в спектральном окне 2,5-5,1 μm . Температурная чувствительность камеры составляет $0,025^{\circ}\text{C}$. Температуру внутри жидкости или на поверхности кожи, закрытой антенной, измеряли с помощью термопары. Точность измерения температуры в этом случае была не хуже $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Диаметр витой пары термопары составлял около 0,1 mm . Постоянная времени термопары была 0,005 с. В зоне облучения антены термопару всегда располагали перпендикулярно Е-вектору облучающего поля.

Регулирование перфузии крови и ее измерение. Для того, чтобы локально увеличить перфузию крови, на поверхность кожи наносился крем финалгон, состоящий из смеси 0,4% *popivamide* и 2,5% *nicoboxil* (Boehringer/Ingeheim, Germany) [Sheel et al., 2001]. Окклюзию кровотока осуществляли манжетой, используемой для измерения артериального давления. Манжета одевалась на плечевую часть руки и нагнеталась воздухом до давления,

превосходящего систолическое на 40-60 мм ртутного столба. Окклюзия осуществлялась в течение ≤ 4 мин. Перфузия крови измерялась с помощью лазерного допплеровского флюметра (Moore Instruments, Ltd., Axminster, UK).

Моделирование нагрева кожи во время облучения ММВ. Нагрев кожи исследовали при локальном ММВ-облучении в ближней зоне антени, применяемой в терапии. В качестве антени использовали пирамидальную антенну аппарата Явь-1 или открытый конец волновода. Распределение ППМ на поверхности кожи при облучении данными антеннами определяли по распределению температуры, полученному в течение первых 5 с облучения. Для анализа нагрева кожи при облучении ММВ рассмотрены три температурные модели. Модель 1 описывала нагрев кожи при облучении широким лучом, например, в дальнем поле рупорной антены, когда распределение ППМ равномерно на всей облучаемой поверхности кожи. Модель 2 описывала нагрев кожи при облучении узким лучом, например, в ближнем поле рупорной антены или вблизи открытого конца волновода. Модель 3 описывала нагрев многослойной кожи при облучении широким лучом. Распределение температуры в коже в норме и при ММВ-облучении рассчитывали с помощью уравнения биотеплопроводности (УБТ) или гибридного уравнения биотеплопроводности (ГУБТ). Отличие этих двух уравнений заключается в том, что в УБТ используется подлинный коэффициент теплопроводности ткани, в то время как в ГУБТ используется эффективный коэффициент теплопроводности, k_{eff} , зависящий от кровотока.

Регистрация токов БЛМ во время облучения ММВ и ДМВ. БЛМ формировали из фосфолипидов мозга и лецитина по общепринятой методике. При исследовании влияния ММВ-облучения БЛМ формировали на отверстии в плоском кончике пластиковой микропипетки, помещенной в экспериментальную ячейку с раствором. Для этого использовали микропипетку подобную той, которая была использована для диализа нейронов. Ячейка состояла из двух плоскопараллельных пластин, выполненных из оргстекла. Боковые стороны ячейки были открыты. К одной из боковых сторон подводился ОКВ, закрытый тонкой тефлоновой пленкой. Пленка контактировала с раствором и предотвращала попадание воды в волновод. С другой боковой стороны ячейки к центру ОКВ подводилась микропипетка с БЛМ на фиксированное расстояние, регулируемое микровинтом. БЛМ облучались в частотном интервале 53,57-78,00 ГГц с помощью генератора Г4-142. При исследовании эффектов ДМВ БЛМ облучались в волноводе с поперечным сечением 30×250 мм². Кварцевая кювета размером 20x20x20 мм, заполненная электролитом, помещалась в центре волновода. Тонкая (0,1-0,2 мм) тефлоновая перегородка с отверстием для формирования БЛМ разделяла кювету на две равные части. Растворы в двух частях кюветы соединялись электрически с входом усилителя фиксации потенциалов через электроды, заполненные агар-агаровым гелем. Пропуск электродов для соединения с усилителем через металлические трубы на выходе волновода обеспечивал надежную защиту усилителей от проникновения ДМВ на их входы. Трансмембранные токи измерялись в режиме фиксации потенциала на мембране с помощью системы Dagan-8500 или TEV-200 (Dagan Corp., Minneapolis, MN, USA).

Метод диализа первых клеток. В качестве объекта исследования использовали неидентифицированные нейроны большого париетального, висцерального и малого париетального ганглиев мозга моллюска *Lymnaea stagnalis*. С помощью вольфрамовых игл и стеклянной пипетки внешнюю оболочку ганглиев окологлоточного кольца, обработанного 0,35%-ным раствором проназы, разрушали и извлекали нейроны. Для работы отбирали неповрежденные нейроны размером 80-110 мкм. Диализ клетки осуществляли в основном по методу, описанному в работе [Крышталь и Пидопличко, 1975], с незначительными модификациями микропипетки. Как известно, сопротивление отверстия в микропипетке может значительно влиять на качество фиксации потенциала на мембране. Удовлетворительных результатов достигают при уменьшении этого сопротивления до 150-200 кОм [Костюк и Крышталь, 1981]. При диаметре отверстия 40-50 мкм, уменьшая толщину стенки пипетки, удавалось снизить сопротивление отверстия до 100 кОм. Для фиксации потенциала

использовали устройство Dagan-8500 или TEV-200 (Dagan Corp., Minneapolis, MN, USA). Сигналы с выхода устройства фиксации потенциалов посредством АЦП Dash-16 (Metra Byte, USA) записывали в память персонального компьютера. Здесь же производилась предварительная и последующая обработка сигналов. Для облучения нейронов ММВ использовали такую же экспериментальную ячейку, какую применяли для облучения БЛМ. В работе исследовались эффекты ММВ на быстрый калиевый и кальциевый токи нейронов.

Методы регистрации ЭА нейронов и нервных ответвлений седалищного нерва. В работе исследовалось влияние ММВ на ЭА пейсмекерного нейрона БП-4 (по классификации Жереловой [Жерелова, 1971; Jerelova et al., 1971]) большого париетального ганглия пресноводного моллюска Большого прудовика *Lymnaea stagnalis*. Мембранный потенциал нейрона регистрировался с применением общепринятого микроэлектродного метода [Purves, 1981]. В качестве предусилителя использовалось устройство TEV-200 (Dagan Corp.). ОКВ, закрытый тонкой тефлоновой пленкой, служил антенной. Волновод подсоединялся к генератору Г4-142 с помощью секции гибкого волновода, позволяющей менять положение ОКВ. ОКВ с помощью микровинта подводился к исследуемому нейрону до установления контакта нейрона с тефлоновой пленкой. При исследовании температурных реакций нейронов температуру в экспериментальной ячейке повышали, пропуская через стеклянный теплообменник раствор, нагретый до определенной температуры.

В экспериментах с седалищным нервом были использованы мыши Swiss Webster. Анестезированная мышь помещалась на резиновую грелку. В нижней части задней конечности в месте расположения седалищного нерва делались надрезы. Кожу пришивали к пластиковому кольцу. Пластиковое кольцо служило для удержания минерального масла, которым заливали препарированное место, чтобы предотвратить засыхание нерва. Разные ответвления седалищного нерва освобождались от соединительной ткани и помещались на пару электродов из серебряного провода для биполярной регистрации ЭА (рис. 2). Седалищный нерв перерезали в 3-5 мм от спинного мозга. Электроды подсоединяли к дифференциальному входу усилителя (Iso-DAM8A, WPI, Sarasota, FL, USA). Сигналы с выхода усилителя с помощью АЦП записывались в память компьютера и анализировались с помощью системы Spike 2 (Cambridge, UK). Рецептивное поле исследуемого нерва облучалось либо рупорной антенной аппарата Явь-1 ($\lambda = 7,1$ мм), либо ОКВ. Источником

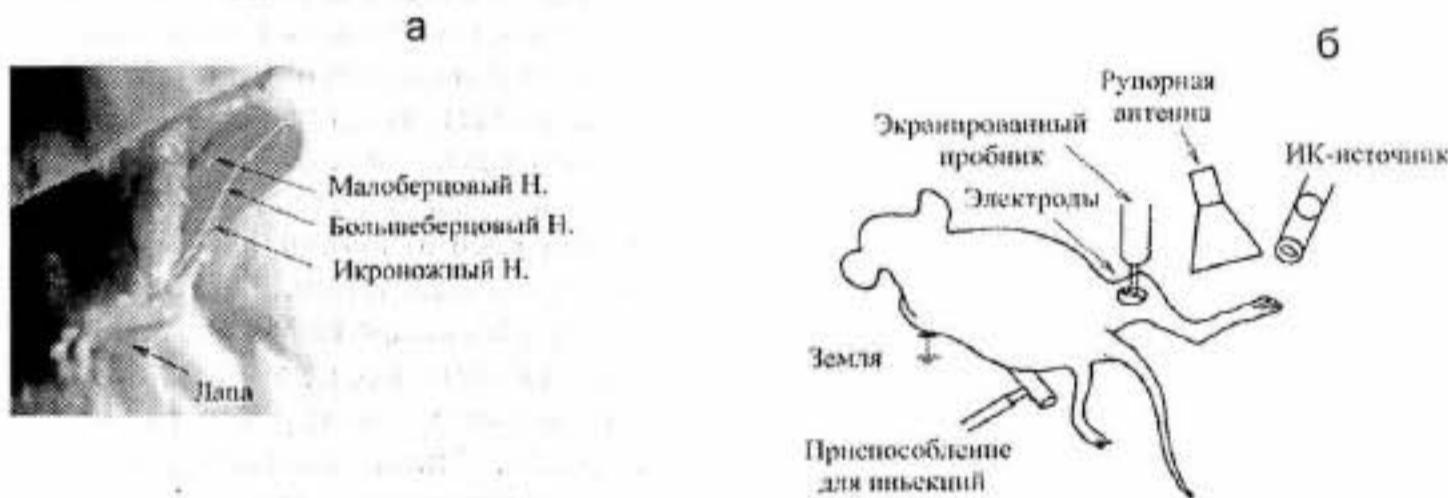


Рис. 2. а: Ответвления седалищного нерва лапы мыши, препарированной для эксперимента. б: Схема установки для отведения ЭА нерва и облучения рецепторного поля нерва ММВ и ИК излучением. Электроды прикреплены к икроножному нерву в точке, где расположен кончик стрелки на рисунке а, указывающей данный нерв.

ММВ для обеих антенн служил генератор Г4-141. Для получения более высокой мощности использовали усилитель ММВ AMP-22-01120 (Millitech, Northampton, MA, USA). Объект облучался как непрерывными, так и импульсно-модулированными ММВ. В последнем

случае сигнал ММВ модулировался меандром с частотой 1 кГц, используя встроенный модулятор генератора Г4-141. Для воспроизведения тепловых эффектов ММВ облучения был использован источник ИК излучения. Нагревательным элементом ИК источника служила спираль из никромовой проволоки, помещенная в фокальной точке металлического отражателя.

Тест отдергивания хвоста мышей. В данных экспериментах использовались мыши Swiss Webster. После анестезии с правой стороны верхнего бедра делались надрезы кожи в месте расположения седалищного нерва. Фрагмент седалищного нерва длиной около 2 мм перерезали в 3-5 мм от спинного мозга и удаляли. Затем рана зашивалась, и животных оставляли на 5 дней для заживления раны. Такая операция позволяет деиннервировать до 90% поверхности подошвы лапы на достаточно длительный период [Bajrovic and Sketelj, 1998]. Тесты отдергивания хвоста для оценки гипоалгезии проводили через 5 дней после операции по перерезке седалищного нерва. Для проведения теста использовали водяную ванну с тающим льдом при температуре $1,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Тест проводили два исследователя. Один облучал лапу ММВ с частотой 61,22 ГГц и средней ППМ=15 мВт/см² в течение 15 мин. Для облучения, неанестезированных мышей помещали в фиксатор (пластиковая трубка диаметром 3,5 см) [Roavin et al., 1997; Radzievsky et al., 2000]. Другой проводил сам тест, опуская хвост животного в холодную воду и определяя время отдергивания хвоста. Таким образом, тест проводился в условиях слепого эксперимента. Животные выдерживали низкую температуру в контроле в среднем около 6-7 с. Были использованы 6 экспериментальных групп, по 15 мышей в каждой группе.

Статистический анализ данных. Результаты представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение (СО) или стандартная ошибка среднего (СОС) (n - число независимых экспериментов). При сравнительном анализе двух или более групп данных проводился тест Колмогорова-Смирнова для проверки нормального распределения данных и Левин тест для проверки равной дисперсии данных. Если данные удовлетворяли условиям нормального распределения или равной дисперсии, то затем проводился дисперсионный анализ ANOVA. Если нет, то проводился непараметрический дисперсионный анализ по критерию Крускала-Уоллиса. При сравнении средних значений одной группы со средними значениями другой группы как и выше были выполнены тесты на нормальное распределение. Если данные удовлетворяли нормальному распределению, то статистический анализ проводился с использованием *t*-теста Стьюдента. Во всех случаях различия считали достоверными по уровню значимости $p < 0,05$.

Глава 3. Результаты исследований и обсуждение.

Часть I. Физическое взаимодействие ММВ с кожей и дозиметрия в биологическом эксперименте. В данном разделе приведены результаты измерения отражения ММВ от кожи, определения диэлектрических свойства разных слоев кожи и глубины проникновения ММВ в кожу, распределения плотности мощности и УПМ в разных слоях кожи. Приведены результаты расчетов распределения Е-поля и УПМ в коже в области расположения кровеносных сосудов, потовых пор и волос, а также способность этих структур к поглощению энергии ММВ. Подробно описаны данные по измерению и расчетам нагрева кожи при действии ММВ, по решению ряда задач практической дозиметрии при ММВ-облучении биологических растворов *in vitro*. Полученные данные представляют научную основу для установления адекватных методов клинической дозиметрии, основываясь на реальной структуре кожи.

Дозиметрия ММВ при облучении биологических растворов *in vitro*. Фантомы из тонких поглощающих пленок широко используются в дозиметрии для определения распределения ППМ в ближней зоне антенны (зоне Френеля) и в областях, закрытых антенной [Khiznyak and Ziskin, 1994]. Принимая во внимание, что начальная скорость роста

температуры фантома в течение короткого времени облучения пропорциональна поглощенной мощности или ППМ, то измеряя распределение прироста температуры, можно определить распределение ППМ. Было показано, что для корректного определения распределения УПМ время облучения фантома не должно превышать 5 с. Тестирование тонких поглощающих фантомов для определения распределения УПМ в раскрыве рупорной антенны при тесном контакте фантома с рупором показало, что это распределение в некоторых случаях может зависеть от толщины фантома. Кроме того, поглощенная мощность в фантоме и полубесконечной среде резко отличаются. Следовательно, фантомы могут быть использованы для измерения распределения УПМ в ближней зоне антенны при условии, что распределение УПМ не зависит от их толщины. Тонкие фантомы не могут быть использованы для определения УПМ в поглощающих полубесконечных средах, таких как биологические растворы или кожа.

Вследствие малой глубины проникновения ММВ в водных образцах биологического препарата ($\delta=0.41$ мм при 42.25 ГГц), эффективное облучение таких препаратов ММВ представляет определенные трудности. Поэтому одной из задач данного исследования явилось теоретическое определение размеров кюветы, обеспечивающих эффективное облучение биологических растворов. Кюветы изготавливают обычно из диэлектрического материала, имеющего низкую диэлектрическую проницаемость. Вследствие этого, передние стенки кюветы играют роль согласователя импедансов воздушной среды и слоя воды, уменьшая отражение ММВ от стенок и тем самым увеличивая интенсивность проходящего через стенку излучения. Задняя стенка вследствие увеличения отражения от нее приводит к выравниванию неравномерности распределения плотности мощности. Для эффективного облучения образцов на частоте 42.25 ГГц было предложено использовать плоско-параллельную кювету, изготовленную из полистирола или полипропилена, с толщиной передней стенки 0.73 мм и задней стенки - 0.3 мм, а также толщиной рабочей камеры между ними 0.33 мм.

Определение диэлектрических свойств разных слоев кожи в диапазоне частот ММВ. Показано, что коэффициент отражения по мощности в сильной степени зависит от типа кожи, т.е. в коже ладони с толстым роговым слоем отражение заметно ниже, чем в коже предплечья. Данные по отражению ММВ от кожи предплечья аппроксимировались моделями 1, 2 и 3. Параметры моделей, полученные в результате аппроксимации экспериментальных данных, приведены в таблице 1. Из таблицы 1 видно, что величина $\Delta\epsilon$, прямо связанная

	Параметр	Номер модели предплечья			Номер модели ладони		
		1	2	3	2	3	4
Роговой слой	ϵ_{∞}	-	2,96	2,96	3,63	3,63	3,63; 3,63
	$\Delta\epsilon$	-	-	-	9,7	9,5	10,1; 0,0
	d, мм	-	0,015	0,015	0,43	0,42	0,43; 0,05
	σ^{ion} , См/м	-	0	0	0	0	0
Э+Д	ϵ_{∞}	4,0	4,0	4,0	4,52	4,52	4,52
	$\Delta\epsilon$	32,0	32,6	32,4	27,2	26,4	27,2
	d, мм	-	-	1,45	-	1,85	1,8
	σ^{ion} , См/м	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
	$\tau \cdot 10^{12}$, с ⁴	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9

Таблица 1. Параметры моделей кожи, полученные в результате аппроксимации экспериментальных данных. *Литературные данные. Э+Д – эпидермис за вычетом рогового слоя + дерма, d – толщина слоя. В модели 4 два параметра включены для описания влажного внутреннего и сухого внешнего подслоев рогового слоя, соответственно.

с концентрацией свободной воды в Э+Д, в разных моделях изменяется мало. Результаты исследований продемонстрировали, что тонкий роговой слой в коже предплечья не оказывает заметного влияния на отражение ММВ в диапазоне частот 37-74 ГГц. Поэтому отражение ММВ от кожи предплечья хорошо описывалось даже гомогенной моделью. Однако, наилучшая аппроксимация экспериментальных данных достигалась при использовании трехслойной модели.

Далее все четыре модели кожи использовались для аппроксимации экспериментальных данных, полученных для кожи ладони. Выяснилось, что гомогенная модель практически не способна воспроизвести экспериментальные данные, т.е. СО было всегда $> 15\%$. Все многослойные модели обеспечивали вполне приемлемую аппроксимацию экспериментальных данных. Аппроксимируя данные моделью 4, принималось во внимание, что тонкий поверхностный слой рогового слоя по аналогии с кожей предплечья является сухим с $\Delta\epsilon=0$. Поэтому роговой слой был разделен на две части: внешний слой с $\Delta\epsilon=0$ и внутренний слой с произвольным $\Delta\epsilon$, определяемым при аппроксимации. Толщины обоих слоев варьировались. Модель 4 обеспечила аппроксимацию с наименьшим значением СО. Низкое отражение ММВ от ладони можно объяснить тем, что роговой слой ладони, имеющий низкую диэлектрическую проницаемость, играл роль согласователя импедансов воздушной среды и жизнеспособного эпидермиса и дермы.

Найденные значения диэлектрической проницаемости далее использовались для расчетов содержания воды в разных слоях кожи в норме (таблица 2). Для тестирования гидратации кожи были использованы различные увлажнители кожи. Полученные данные свидетельствуют о том, что вода во время действия увлажняющих веществ не проникает в жизнеспособный эпидермис и дерму. Слишком тонкий роговой слой кожи предплечья не влияет на отражение ММВ и не позволяет получить информацию о гидратации рогового слоя. Однако, в коже ладони роговой слой достаточно толстый и изменения электрических свойств рогового слоя заметно влияют на отражение ММВ. Это позволило выявить, что увлажнители кожи приводят к заметной аккумуляции воды в роговом слое.

	Параметр	Номер модели предплечья			Номер модели ладони		
		1	2	3	2	3	4
Рог. слой	$W_{\text{сух}}$	-	-	-	0,12	0,12	0,13
	$W_{\text{см}}$	-	-	-	0,26-0,31	0,26-0,31	0,25-0,30
Э+Д	$W_{\text{сух}}$	0,46	0,47	0,47	0,40	0,39	0,40
	$W_{\text{см}}$	0,19-0,24	0,18-0,23	0,18-0,23	0,25-0,30	0,26-0,31	0,25-0,30

Таблица 2. Содержание воды в разных слоях кожи.

Теоретические расчеты распределения ППМ и УПМ в различных слоях кожи. Используя электрические свойства кожи, полученные в данной работе, была подсчитана частотная зависимость отражения ММВ от кожи предплечья и ладони для плоской волны в частотном диапазоне 30-300 ГГц. Было показано, что степень гидратации рогового слоя кожи предплечья практически не влияет на отражение ММВ (рис. 3). В коже ладони отражение ММВ становится очень чувствительным к изменению гидратации рогового слоя. В сухом роговом слое (содержание воды =0) наблюдается колебательное изменение отражения с частотой. При высокой гидратации, которая имеет место при действии увлажнителей кожи, колебательное изменение отражения практически полностью нивелируется. При нормальной концентрации воды в роговом слое (0,12) можно наблюдать минимум отражения при частотах 80-90 ГГц и с дальнейшим увеличением частоты - увеличение отражения.

Глубина проникновения ММВ в кожу предплечья и ладони заметно падает с увеличением частоты. Причем глубина проникновения в кожу ладони была намного выше, чем в кожу предплечья. Показано, что ММВ практически полностью поглощаются в

пределах эпидермиса и дермы человека (рис. 4). Следовательно, большинство клеток (кератиноциты, меланоциты и т.д.) и структур (нервные окончания, кровеносные сосуды, потовые поры, волосы и т.д.), находящихся в эпидермисе и дерме, могут быть первичными мишениями действия ММВ. Нам не удалось выявить частотную зависимость отражения или поглощения в слоях кожи, подобную резонансной. Это объясняется тем, что разные слои кожи не сильно отличаются по содержанию воды.

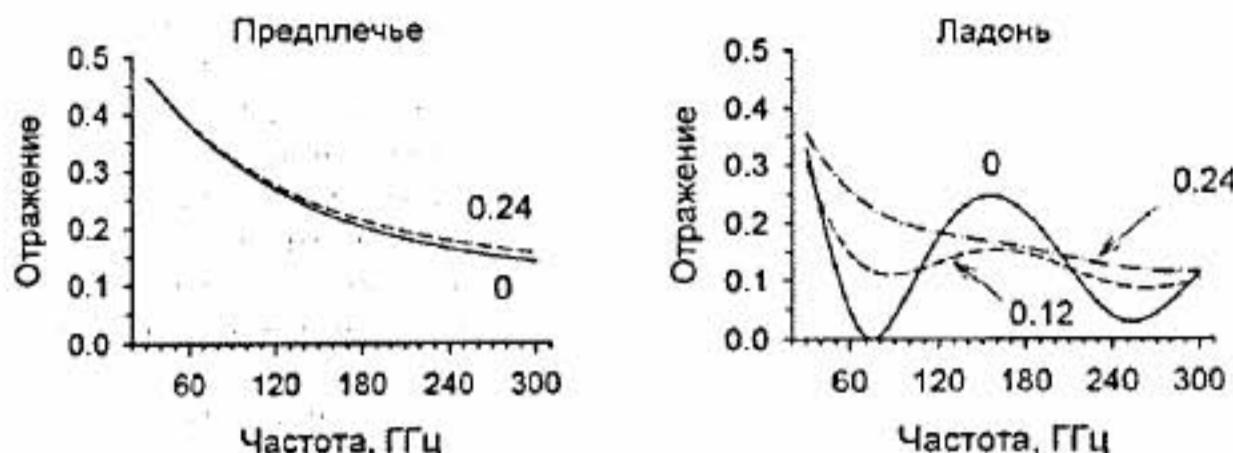


Рис. 3. Частотные зависимости коэффициента отражения по мощности для кожи предплечья и ладони, рассчитанные для плоской волны с использованием модели 3. Цифры обозначают весовые фракции свободной воды.

Рис. 4

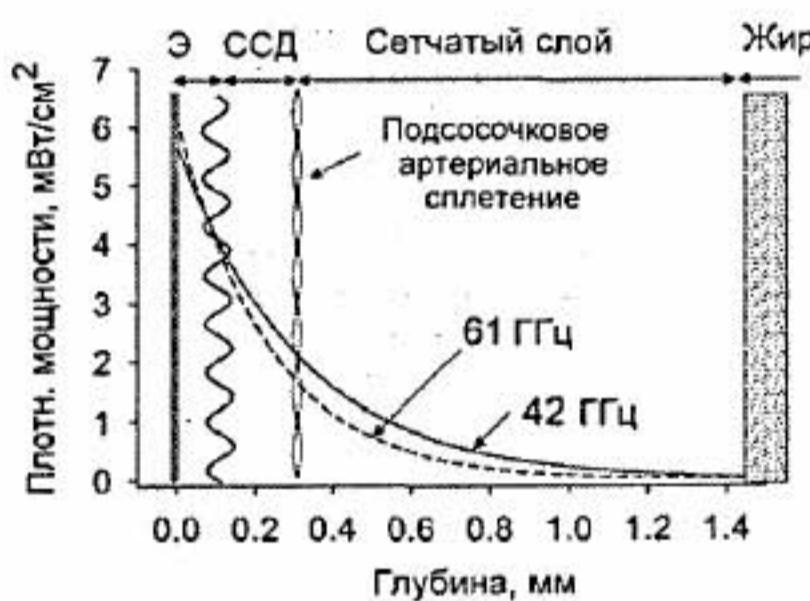
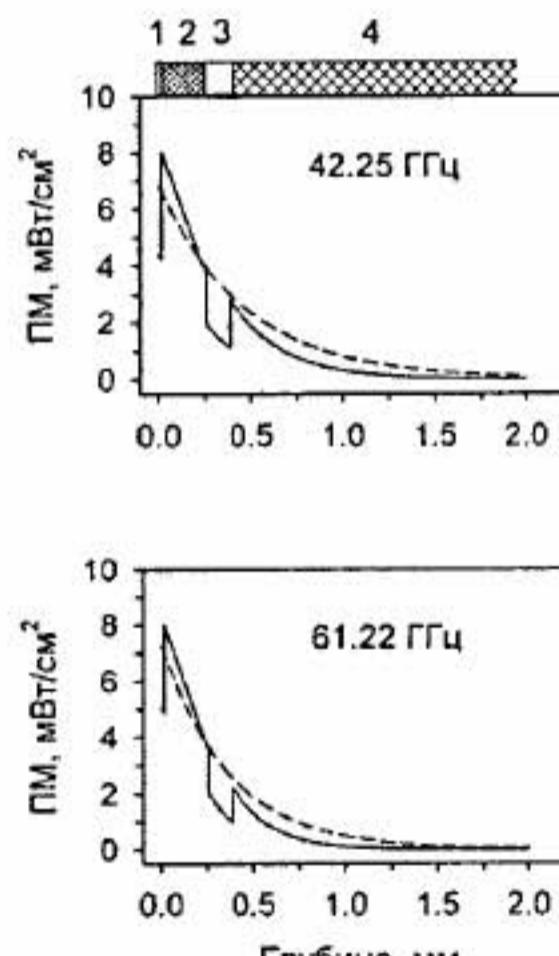


Рис. 4. Профили плотности мощности в коже предплечья, рассчитанные с помощью модели 3. Расчеты выполнены для плоской волны с частотами 42 и 61 ГГц, падающей нормально на поверхность кожи с ППМ=10 мВт/см². Обозначения: Э- эпидермис, ССД- сосочковый слой дермы. Подсосочковое сосудистое (артериальное) сплетение находится на глубине ~0,3 мм.

Рис. 5. Профили плотности потока мощности (ПМ) в коже мыши с волосяным покровом, рассчитанные с использованием гомогенной (штриховые линии) и четырехслойной (сплошные линии) модели. В четырехслойной модели 1- роговой слой; 2- Э+Д; 3- жировой слой и 4- мышечный слой. Расчеты выполнены для плоской волны с ППМ=10 мВт/см². Резкий скачок в распределении ПМ в жировом слое обусловлен меньшим значением показателя преломления (n) жира относительно п окружающей ткани.

Рис. 5



Экспериментальные данные от двух штаммов мышей с волосяным покровом и без волосяного покрова хорошо аппроксимировались как гомогенной, так и многослойной моделями. Используя электрические свойства кожи мышей, полученные в настоящей работе, были подсчитаны коэффициенты отражения по мощности, распределение ППМ и УПМ и глубина проникновения плоской волны в кожу. Рис. 5 демонстрирует, что в отличие от кожи человека ММВ проникают глубоко в кожу мышей и достигают мышечного слоя при достаточно высокой плотности мощности. Около 42,5% и 32% энергии ММВ от общего количества энергии, входящего в кожу, поглощается мышцей при частотах 42,25 и 61,22 ГГц, соответственно. Это может приводить к биологическим эффектам ММВ на мышцу. Поэтому при экстраполяции эффектов ММВ, обнаруженных в мышах, на человека необходимо определить структуры, ответственные за эффект. Если первичная мишень воздействия ММВ расположена в мышце мышей, то экстраполяция эффектов на человека будет неправомерной.

Взаимодействие ММВ с электрически неоднородными структурами среды. До настоящего времени в литературе не уделялось должного внимания вопросу влияния электрически неоднородных структур на распределение ЭМП ММВ в коже. Для того, чтобы восполнить этот пробел, нами были рассчитаны распределения Е- поля и УПМ в растворе в местах расположения термопары (ТП) и пузырька воздуха и в коже в области волоса, потовой поры и кровеносных сосудов.

Было показано, что ТП, помещенная в раствор и ориентированная перпендикулярно Е-полю, вызывает значительные локальные искажения в распределении УПМ и Е- поля. Несмотря на это, средняя величина УПМ вокруг ТП остается равной ее средней величине, имеющей место в отсутствии ТП. Следовательно, ТП не может вносить заметных искажений в измерение прироста температуры, который пропорционален средней УПМ. Пузырек воздуха в растворе также производит значительные локальные отклонения распределения УПМ от однородного паттерна. В связи с этим представляется важным во время экспериментов *in vitro* исключить из зоны облучения не только металлические объекты, но и воздушные пузырьки, которые по способности возмущения распределения УПМ играют такую же роль, как и металлические объекты.

Во время измерения температуры кожи ТП прикрепляется к поверхности кожи. При перпендикулярной ориентации относительно Е-вектора облучающего поля ТП приводит к небольшому искажению распределения УПМ, которое в отсутствии ТП было однородным. Однако усредненное значение УПМ в коже, окружающей ТП и включающей контакт ТП, примерно равно УПМ в контроле. Это означает, что нагрев поверхностного слоя кожи будет одинаковым в присутствии или в отсутствии ТП, т.е. при перпендикулярной ориентации ТП возможно безартефактное измерение температуры. В отдельном эксперименте сравнивалась кинетика роста температуры фантома, измеренная одновременно с помощью ИК камеры и ТП во время облучения ММВ. Кинетика нагрева, измеренная этими двумя методами, в пределах точности измерения ($\pm 0,1^\circ\text{C}$) была идентичной. При параллельной ориентации ТП по отношению к Е-вектору облучающего поля наблюдается значительный рост УПМ в области ТП. Поэтому использование ТП, ориентированной параллельно Е-вектору, не рекомендуется для измерения температуры во время облучения.

При расчетах распределения УПМ и Е- поля в коже в области расположения волоса и потовой поры было показано, что оба этих придатка производят локальные искажения распределения УПМ и Е- поля в коже (рис. 6 и 7). Внутри волоса наблюдается незначительное поглощение ММВ (около 5% от среднего значения УПМ), которое можно объяснить низким содержанием воды в волосе. Внутри поры амплитуда Е- поля уменьшается, но возрастают потери вследствие увеличения проводимости пота по сравнению с проводимостью кожи, которые приводят к небольшому росту УПМ внутри поры.

Расчеты распределения УПМ в среде (коже и воде) около различных объектов выявили важные закономерности. Во-первых, отклонения распределения УПМ и Е- поля от среднего в значительной степени зависят от разницы в диэлектрических свойствах среды и

объекта. Во-вторых, искажения УПМ и Е-поля очень локальны и, в-третьих, максимумы и минимумы УПМ и Е-поля расположены не в самих поглощающих объектах, а в среде в непосредственной близости от объекта. Вследствие этого, вблизи этих объектов возникают высокие градиенты электрического поля. Известно, что волосы и поры иннервированы [Sinclair, 1973]. А это означает, что величина градиента Е-поля в области расположения нервных окончаний может быть в несколько раз выше, чем в основной массе кожи. Высокие градиенты Е-поля могут быть причиной некоторых биологических эффектов [Бецкий, 1993].

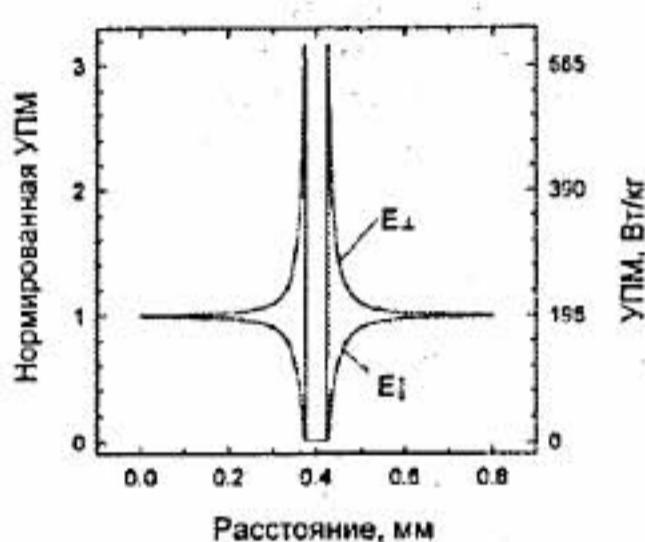


Рис. 6.

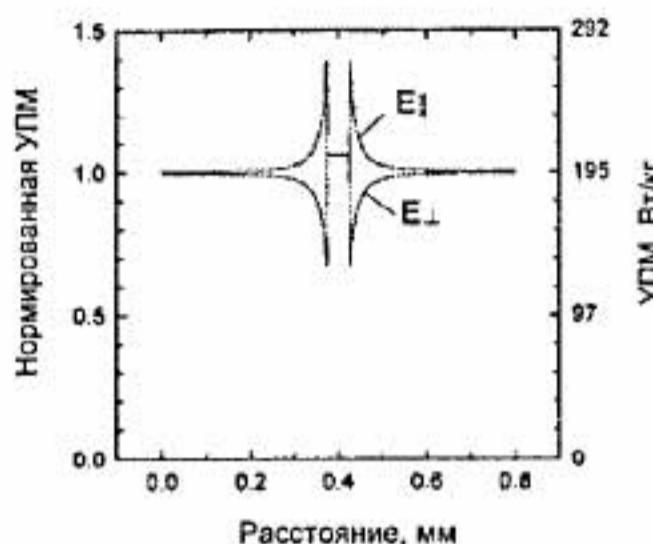


Рис. 7.

Рис. 6. Профили распределения УПМ вокруг волоса в коже вдоль (E_{\parallel}) и перпендикулярно (E_{\perp}) направлению Е-вектора. Диаметр волоса 0,05 мм.

Рис. 7. Профили распределения УПМ вокруг потовой поры в коже. E_{\parallel} и E_{\perp} указывают направления относительно Е-вектора, вдоль которых получены профили. Диаметр поры - 0,05 мм.

При облучении кожи ММВ распределение УПМ в кровеносных сосудах зависело от размеров кровеносных сосудов, их ориентации относительно Е-поля и диэлектрических свойств окружающей ткани. Было принято считать кровеносный сосуд длинным, если его длина, по крайней мере, в 10 раз превосходила его диаметр. При ориентации длинного кровеносного сосуда, расположенного в дерме параллельно к-вектору или Н-вектору, УПМ и амплитуда Е- поля в кровеносных сосудах была ниже, чем в окружающей дерме. При ориентации длинного кровеносного сосуда параллельно Е-вектору УПМ внутри кровеносного сосуда превышала УПМ в окружающей дерме в 1,4 раза. Е-поле в кровеносном сосуде становилось равным Е-полю в окружающей дерме.

Повышенное поглощение ММВ энергии в длинных кровеносных сосудах происходит благодаря максимальному сопряжению между Е-полем и параллельным кровеносным сосудом. В этом случае отношение значений УПМ в длинном кровеносном сосуде и дерме пропорционально $\sigma_{\text{кс}}/\sigma_{\text{д}}$. Здесь индексы кс и д обозначают кровеносные сосуды и дерму, соответственно. Поскольку данное отношение >1 , то и поглощение энергии ММВ в кровеносных сосудах выше, чем в дерме. Диаметры кровеносных сосудов, расположенных в подсосочковой сосудистой сети, находятся в пределах 8-35 мкм. Длины этих кровеносных сосудов заметно превосходят значения, необходимые для получения максимального поглощения. Поэтому большинство кровеносных сосудов, ориентированных параллельно Е-полю, поглощают энергию ММВ больше, чем окружающая дерма.

Особенности поглощения ММВ кровеносными сосудами, расположенными в дерме мыши, качественно совпали с результатами, полученными для дермы человека. Максимальное поглощение энергии ММВ, равное 1,7, имело место в длинных кровеносных

сосудах, ориентированных параллельно Е-вектору. Разница в величине поглощения по сравнению с кожей человека обусловлена тем, что дерма мыши имеет более низкую проводимость, и, следовательно, более высокое значение отношения $\sigma_{\text{кс}}/\sigma_{\text{д}}$.

Для расчетов Е- поля и УПМ в кровеносных сосудах, расположенных в жировом слое мыши, были использованы два типа моделей: прямоугольный блок кожи мыши с кровеносным сосудом, расположенным в жировом слое, и цилиндрические (круговая и эллиптическая) модели конечности мыши. Показано, что кровеносные сосуды, расположенные в центре жирового слоя параллельно поверхности жирового слоя и Е-полю, поглощают ММВ так же, как и кровеносные сосуды, расположенные в дерме. Поглощение энергии ММВ значительно возрастает в кровеносных сосудах, пронизывающих жировой слой и ориентированных параллельно Е-полю. Например, максимальная нормированная УПМ в очень маленьких кровеносных сосудах, таких как капилляры, при облучении с частотой 42,25 ГГц может достичь значения 32,4. Повышенное поглощение ММВ

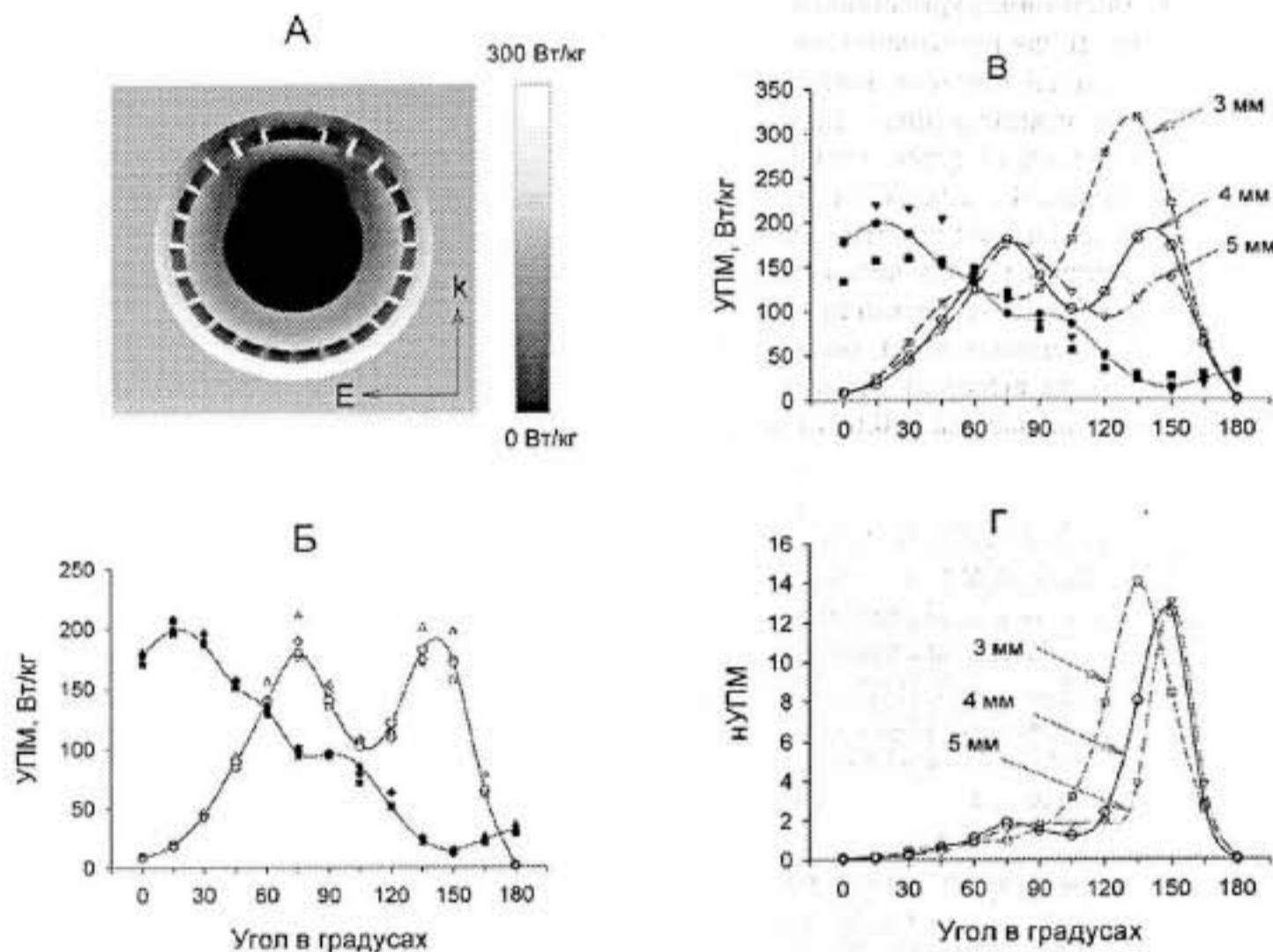


Рис. 8. Распределение УПМ в цилиндрической модели конечности мыши. А- Вид поперечного сечения. Внешний диаметр конечности- 4 мм. Диаметр кости- 2 мм. Б- Зависимость УПМ в кровеносных сосудах и окружающей ткани от радиального угла их расположения при диаметре кости 0 (кружочки), 1,5 (квадратики), 2,0 (ромбики) и 2,5 мм (треугольники). Заполненные и открытые символы представляют УПМ в коже и кровеносных сосудах, соответственно. Сплошные линии проведены через кружки. Диаметр кровеносных сосудов- 0,05 мм. Зависимость абсолютных (Б) и нормированных (Г) значений УПМ в кровеносных сосудах от радиального угла при внешнем диаметре конечности 3, 4 и 5 мм. Заполненные и открытые символы в (Б) представляют УПМ в коже и кровеносных сосудах, соответственно. Диаметр кости- 0 мм. Диаметр кровеносных сосудов- 0,05 мм. Нормирование в данном случае производили путем деления УПМ в кровеносном сосуде на УПМ в поверхностном слое кожи, расположенном напротив кровеносного сосуда.

осуществляется как за счет увеличения амплитуды Е-поля в кровеносном сосуде, так и в результате более высокой проводимости крови относительно окружающей ткани.

При облучении кругового или эллиптического цилиндров, представляющих модели конечности мыши, плоской волной с частотой 42,25 ГГц поглощение энергии ММВ кровеносными сосудами, расположеннымими вокруг конечности, было не однородным (рис. 8). Максимумы поглощения появлялись в латеральных областях конечности. В этих областях значения УПМ в кровеносных сосудах были сравнимы или даже превышали значения УПМ в коже. Включение в модель кости диаметром до 2 мм не производило заметного влияния на распределение УПМ в коже и кровеносных сосудах. С уменьшением диаметра конечности максимальная УПМ в коже уменьшалась, в то время как в кровеносных сосудах она увеличивалась.

Повышенное поглощение ММВ кровеносными сосудами может играть первичную роль в инициировании эффектов ММВ на клетки крови и высвобождение окиси азота, приводящего к вазодилатации кровеносных сосудов. Полученные данные имеют большое значение для дозиметрии и для понимания возможных механизмов биологического действия ММВ.

Особенности нагрева кожи под действием ММВ. Были измерены кинетика роста температуры и стационарный нагрев кожи. На рис. 9 приведены термограммы кожи предплечья и пальца, облученные ОКВ. Прирост температура кожи предплечья после 10 мин облучения составил $4,7 \pm 0,4^\circ\text{C}$ ($n=9$). В пальце максимальный прирост температуры в тех же условиях облучения был заметно меньше: $2,5 \pm 0,3^\circ\text{C}$ ($n=11$). После выключения облучения диссипация тепла из «горячего» пятна в пальце была значительно выше, чем в коже предплечья. Во время окклюзии кровотока прирост температуры в коже предплечья и пальца был одинаков. Следовательно, большая разница в нагреве кожи предплечья и пальца была обусловлена более высокой перфузией крови в пальце. Известно, что в норме скорость перфузии в предплечье равна 0,0014 мл/с/мл, а в пальце - 0,0033 мл/с/мл [Gordon et al., 1976].

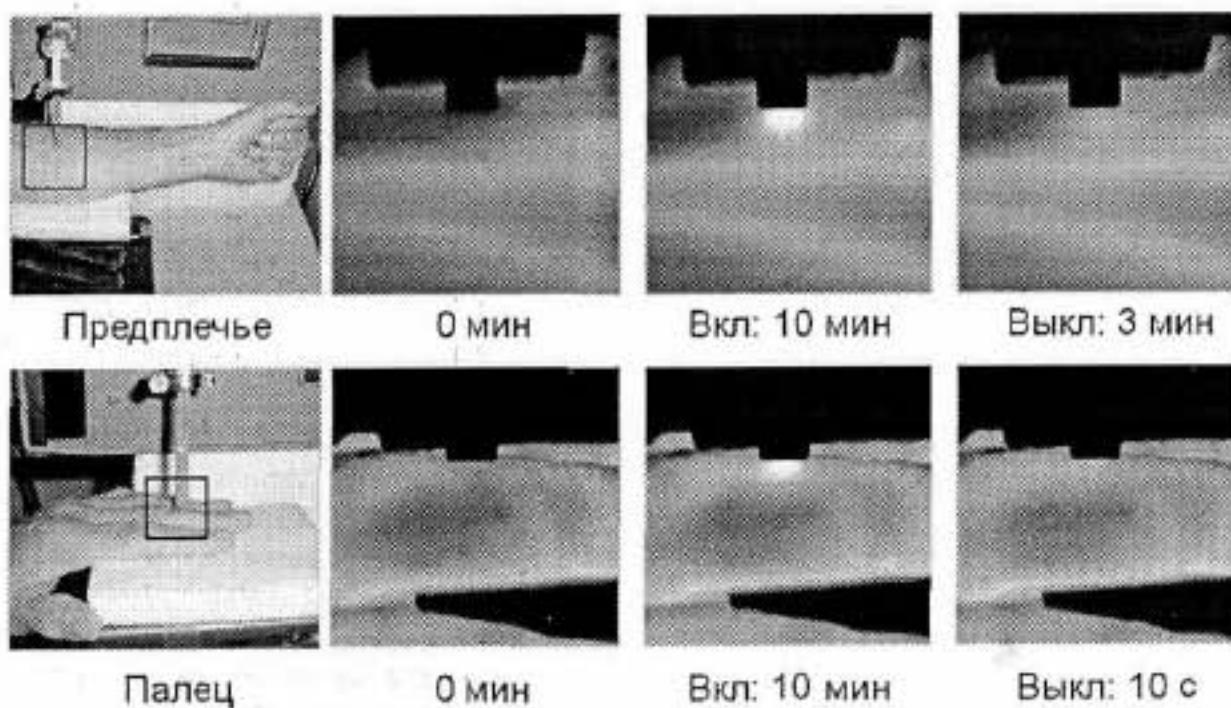


Рис. 9. Термограммы кожи предплечья и пальца, облученных ОКВ с $\text{ППМ}_0=208 \text{ мВт/см}^2$. ИК изображения получены для областей, помеченных черными квадратами на фотографиях предплечья и пальца (левые рисунки). Максимальные значения прироста температуры в центре «горячих» пятен в коже предплечья и пальца после 10 мин облучения были $4,6$ и $2,5^\circ\text{C}$, соответственно. На термограммах более светлые области соответствуют более высокой температуре кожи. На термограммах предплечья видны горизонтальные светлые полосы, которые соответствуют повышенной температуре кожи над венами.

Показано, что с уменьшением размера луча температура на поверхности кожи быстрее достигает стационарного значения, при этом величина прироста температуры падает. Внутри кожи с увеличением глубины увеличивается начальная задержка в росте температуры. Одновременно замедляется кинетика роста температуры и уменьшается нагрев более глубоких слоев кожи. Стационарный нагрев кожи зависит от скорости перфузии крови f_b . С увеличением скорости перфузии прирост температуры падает. Наши данные продемонстрировали, что УБТ хорошо описывает локальную гипертермию, вызываемую ММВ-облучением, только при низкой перфузии. При высокой f_b экспериментальные данные не поддавались аппроксимации с помощью УБТ. Однако, экспериментальные данные, полученные как при высокой, так и при низкой f_b , хорошо аппроксимировались ГУБТ (рис. 10). Охлаждающий эффект кровотока в основном осуществлялся за счет увеличения k_{eff} . Показано, что k_{eff} пропорционален кровотоку f_b . Мы считаем, что использование ГУБТ является более предпочтительным, чем УБТ, в моделировании гипертермии кожи независимо от способа нагрева. Следует отметить, что скорость перфузии крови оказывает малое влияние на кинетику роста температуры в течение первых 10-20 с облучения. В этом случае кинетику роста температуры можно моделировать более простым УБТ.

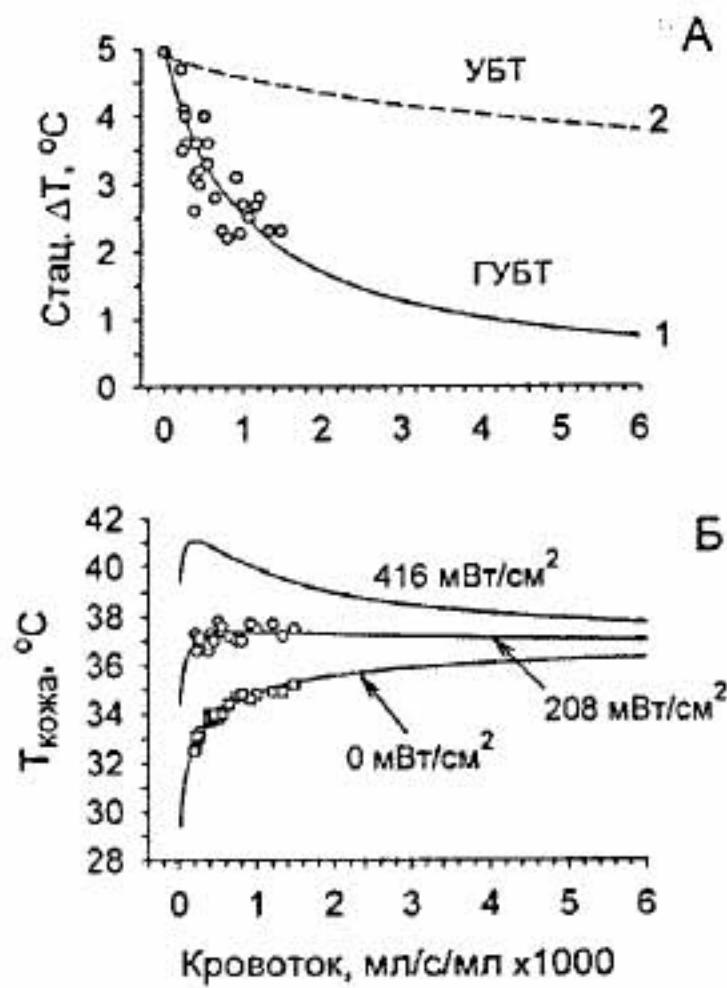


Рис. 10. Зависимость нагрева кожи ММВ от скорости кровотока. А- Стационарный прирост температуры в коже, облученной с помощью ОКВ с $ППМ_0=208 \text{ мВт/см}^2$, в зависимости от скорости кровотока. Кружочки- экспериментальные данные. Сплошная линия 1- аппроксимация ГУБТ. Штриховая линия 2- аппроксимация УБТ при $k_t=0,32 \text{ Вт/м/}^\circ\text{C}$. Б- Зависимость температуры кожи от скорости кровотока, рассчитанная с помощью ГУБТ. Сплошные кривые представляют рассчитанные изменения температуры кожи в контроле в отсутствие облучения (0 мВт/см^2), при облучении с $ППМ_0=208 \text{ мВт/см}^2$ и при облучении с $ППМ_0=416 \text{ мВт/см}^2$. Кружочки- данные, полученные из эксперимента.

При исследовании частотной зависимости нагрева кожи ММВ было найдено, что прирост температуры и УПМ увеличиваются с ростом частоты. При этом, частотная зависимость прироста температуры практически полностью обусловлена частотной зависимостью отражения ММВ от кожи, в то время как увеличение УПМ с ростом частоты обусловлено уменьшением глубины проникновения ММВ в кожу. ММВ отличаются от ДМВ тем, что почти вся энергия ММВ поглощается в тонком поверхностном слое кожи. Известно, что для 42 ГГц $\delta=0,6 \text{ мм}$, в то время как для 1 ГГц $\delta=3,85 \text{ см}$. На глубине δ поглощается 86,5% энергии. Пусть ППМ, проникающая в кожу, для обеих частот одинакова. В этом случае поглощаемая энергия ММВ будет сконцентрирована в небольшом объеме глубиной 0,6 мм. Поглощаемая же энергия ДМВ будет сосредоточена в значительно большем объеме с

глубиной 3,85 см. Это приводит к тому, что при одной и той же ППМ УПМ в поверхностном слое кожи для ММВ оказывается значительно выше, чем для ДМВ. Этим, в частности, объясняются высокие значения УПМ при облучении ММВ даже с относительно низкой интенсивностью.

Для описания нагрева многослойной кожи были использованы 4 модели кожи, которые включали следующие слои: эпидермис, дерму, жировой слой и мышцу. Наш анализ показал, что неспецифический кровоток в гомогенной модели может быть выражен через кровотоки в дерме, жировом слое и мышце в многослойной модели и наоборот. Следовательно, результаты прежних работ, выполненных с использованием гомогенной модели, могут быть использованы в многослойных моделях для детального описания распределения температуры.

В многослойной модели наличие жирового слоя приводит к появлению скачка градиента температуры между кожей и мышцей. Разность температур между кожей и мышцей, а также прирост температуры на поверхности кожи после ММВ-облучения, увеличиваются с ростом толщины жирового слоя. По всей вероятности, жировой слой уменьшает охлаждающее действие кровотока в подкожных слоях.

Многослойные модели позволяют оценить распределения температуры в различных слоях, которые трудно измерить экспериментально. Поскольку различные структуры кожи, такие как нервные окончания, кровеносные сосуды и т.д., расположены в разных слоях кожи, то их температурные ответы будут зависеть от локальной температуры в местах их расположения. Следовательно, различные биологические эффекты ММВ будет легче объяснить, зная распределения температуры, определенные с помощью многослойной модели.

Новый метод определения диэлектрических свойств кожи и фантомов на частотах ММВ, основанный на измерении кинетики нагрева. Нами был предложен новый метод определения диэлектрических свойств материалов, содержащих воду (кожа, фантомы кожи), основанный на измерении кинетики нагрева во время ММВ-облучения. Поскольку УБТ содержит член, описывающий удельное тепловыделение в ткани, который пропорционален интенсивности облучения и обратно пропорционален глубине проникновения, то, аппроксимируя экспериментально измеренную кинетику нагрева кожи с помощью УБТ, можно определить глубину проникновения и, следовательно, диэлектрические свойства материалов. Экспериментальные результаты подтверждают, что диэлектрические свойства материалов, полученные с помощью кинетики нагрева, совпадают с диэлектрическими данными, измеренными традиционными методами (рис. 11).

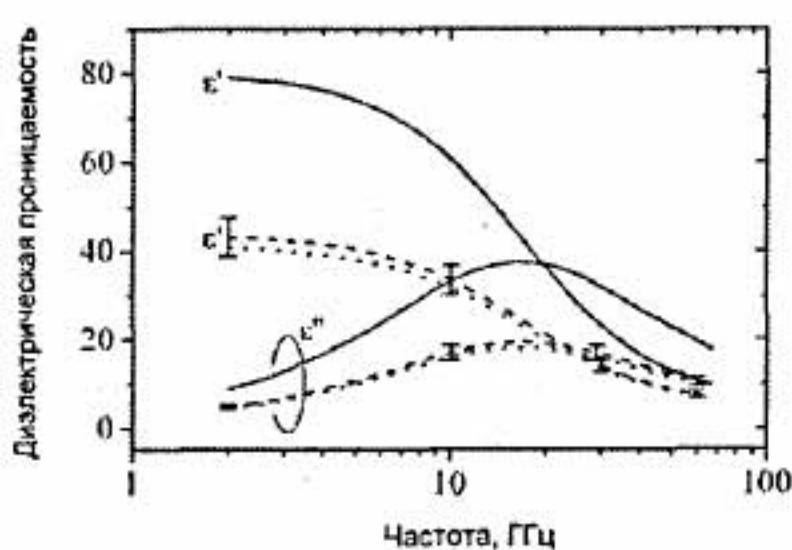


Рис. 11. Диэлектрические проницаемости чистой воды (сплошные линии) и 20% фантома кожи (пунктирные линии), измеренные с помощью тонкого коаксиального пробника в составе векторного анализатора цепей Agilent 8510C (VNA 45 MHz-110 GHz). Штриховые линии представляют собой диэлектрическую проницаемость 20% фантома кожи, определенную из кинетики нагрева. Фантомы кожи состояли из полиэтиленового порошка, агара, вещества TX-151, азота натрия и дистиллированной воды.

Установление адекватных методов дозиметрии при локальном облучении ММВ. На практике в дозиметрии ММВ используются несколько подходов:

1. Измерение распределения Е-компоненты электромагнитной волны, излучаемой антенной, с помощью зондов Е-поля [Буткус, 1990; Pakhomov et al., 1997].
2. Измерение распределения ЭМИ с помощью приемной антенны [Walters et al., 2000].
3. Определение УПМ из прямых измерений кинетики нагрева объекта.
4. Использование различных расчетных методов.

В биологическом эксперименте животные облучаются либо полностью в дальней зоне излучающей антенны, либо локально в ближней зоне антенны. При облучении в дальней зоне антенны распределение плотности падающей мощности обычно однородно и легко находится несложными вычислениями [Гапеев, 2006]. При терапевтическом использовании ММВ человек облучается локально в ближней зоне антенны в точках акупунктуры или в областях расположения БАТ. Поэтому рассмотрим применимость различных методов дозиметрии для облучения в ближней зоне антенны.

Как показано в литературе [Буткус, 1990], зонды Е-поля могут быть использованы для измерений в ближней зоне антенны. Однако эти измерения являются очень сложными, поскольку показания зонда зависят от ориентации Е-поля. Е-поле в свою очередь может принимать в ближней зоне разные направления. Другой трудностью является недоступность таких зондов для биологических лабораторий, поскольку они изготавливаются по индивидуальному заказу. Следует отметить также, что несмотря на малые размеры, зонды вносят искажения в распределение поля. Исходя из вышесказанного, мы считаем, что применение зондов Е-поля в дозиметрии ММВ пока не является общепринятым и доступным методом.

В качестве приемной антенны при измерении распределения плотности мощности в миллиметровом диапазоне длин волн обычно используется открытый конец волновода без фланцев. Этот метод дает хорошие результаты для излучения с относительно широким лучом, в несколько раз превосходящим размер волновода. При облучении же узким лучом этот метод является достаточно грубым, чтобы использовать его для дозиметрии.

Наиболее практическим методом в дозиметрии ММВ, на наш взгляд, является определение УПМ по начальной скорости нагрева объекта $dT/dt|_{t=0}$. Вследствие большой нелинейности начального участка кинетики нагрева начальную скорость роста температуры невозможно определить графически. Это накладывает определенные требования на точность измерения температуры и определение $dT/dt|_{t=0}$. Анализ точности определения УПМ по $dT/dt|_{t=0}$ показал, что используя даже современные измерители температуры, невозможно точно определить УПМ по $dT/dt|_{t=0}$. Однако УПМ на практике можно достаточно точно определить, аппроксимируя начальный участок (10-20 с) экспериментальной температурной кинетики решением УБТ. Причем, невысокая точность измерения температуры в этом случае не будет критичной для точного определения УПМ. Распределение плотности мощности излучения можно определить, измеряя прирост температуры на поверхности кожи или фантома с помощью ИК-камеры за время облучения не более 5 с.

Этот метод имеет свои преимущества и недостатки. В качестве преимущества можно считать то, что во время облучения измеряется прирост температуры. Это необходимо для сравнения эффекта ММВ с эффектом обычного нагрева, чтобы отделить тепловые эффекты от нетепловых. К числу недостатков следует отнести следующие ограничения. Для получения надежных результатов объект должен быть нагрет настолько, чтобы можно было уверенно регистрировать прирост температуры. Например, типичные плотности мощности излучения терапевтического аппарата Явь-1 лежат в пределах 10-30 мВт/см², что позволяют нагреть объект на 1-2°C. Однако, мощности других аппаратов могут быть намного меньше, что затруднит применение данного метода в дозиметрии.

В последнее время появились компьютерные программы для вычисления распределения Е-поля и УПМ в ближней зоне антенны. К сожалению, на данном этапе они в

основном доступны только для специализированных лабораторий и требуют специальной подготовки для их использования.

Часть II. Эффекты ММВ на элементы периферической нервной системы на уровне мембран, пейсмекерных нейронов и кожных сенсорных рецепторов. Найдено, что облучение мышей ММВ с частотой 61,22 ГГц и средней плотностью мощности 15 мВт/см² на участках тела с плотной иннервацией приводит к эффекту гипоалгезии [Radzievsky et al., 2001]. Наибольший эффект получали при облучении лап и носа животных. Для оценки эффекта гипоалгезии использовали тест отдергивания хвоста. После облучения лапы животные выдерживали болевую стимуляцию холодом почти в два раза дольше, чем до облучения. Денинервация облучаемой лапы путем перерезки седалищного нерва приводила к полному исчезновению эффекта гипоалгезии. Таким образом, этот результат ясно демонстрирует, что взаимодействие ММВ с кожными нервными окончаниями является существенным шагом в инициализации биологических эффектов ММВ. В связи с этим, в данном разделе приведены результаты исследования механизмов действия ММВ на элементы периферической нервной системы в коже на разных уровнях организации, начиная от мембранных уровней и кончая сенсорными рецепторами.

Эффекты ДМВ и ММВ на искусственные мембранны. При исследовании эффектов ММВ на БЛМ были измерены проводимость и емкость БЛМ в отсутствие каких-либо модификаторов и проводимость БЛМ, модифицированных липидорастворимыми ионами (ТФБ⁺) и каналообразующими агентами (грамицидин А и амфотерицин Б). В отсутствии модификаторов мы не смогли обнаружить заметных изменений проводимости БЛМ за время облучения 5-25 мин с УПМ=2016±170 Вт/кг и частотой 61,22 ГГц. Однако, в большинстве экспериментов через 5 мин облучения наблюдалось уменьшение емкости БЛМ. При облучении БЛМ, модифицированных ТФБ⁺, с УПМ= 2016 Вт/кг и частотой 61,22 ГГц наблюдалось обратимое увеличение мембранных токов. Облучение в частотном диапазоне 54-76 ГГц с шагом 1 ГГц приводило к изменениям тока, аналогичным изменениям при облучении с частотой 61,22 ГГц, т.е., мы не обнаружили резонансноподобных изменений тока. Импульсная модуляция ММВ с несущей частотой 61,22 ГГц и частотами модуляции 1, 4, 8, 12, 16, 32, 60, 100 и 1000 Гц также не выявила частотнозависимых особенностей эффекта. Показано, что все изменения проводимости БЛМ независимо от присутствия или отсутствия модифицирующих агентов обусловлены тепловым действием ММВ.

Хотя в данном исследовании мы не обнаружили частотной зависимости эффектов ММВ, мы не можем утверждать, что резонансные эффекты в принципе отсутствуют. В данной работе исследовалось влияние ММВ в относительно узком частотном интервале 54-76 ГГц. В то время как резонансные частоты Фрёлиха могут находиться в диапазоне более высоких частот, например, > 100 ГГц. Частотный диапазон, использованный нами, был выбран исходя из практических соображений, поскольку он содержит терапевтические частоты 53,54 и 61,22 ГГц, широко используемые в медицине.

При выборе частот модуляции мы руководствовались результатами, полученными Эйди с сотрудниками [Bawin et al., 1975; Bawin and Adey, 1976; Adey, 1981]. Данные авторы обнаружили, что зависимость микроволнового эффекта выхода кальция из мозга цыпленка от частоты модуляции имеет колоколообразную форму с максимумом в районе 16 Гц. Используя модуляцию в том же частотном диапазоне, мы не обнаружили явно выраженной частотной зависимости эффекта ММВ на транспорт ТФБ⁺ через БЛМ. Этот результат может свидетельствовать о том, что в опытах с выходом кальция эффект микроволн не был связан с прямым нарушением проницаемости клеточной липидной мембраны. Полученные нами результаты в какой-то мере подтверждены в исследованиях эффектов ММВ с частотой 60 ГГц на однослойные липидные мембранны на границе воздух-раствор [Zhadoov et al., 2006]. Мембранны облучались до 6 часов с разной мощностью и поляризацией, применялась модуляция. Авторы обнаружили слабое увеличение внешнего давления на фосфолипидные

монослои и отсутствие заметной модификации распределения микродоменов в фосфолипидных монослоях.

В отличие от ММВ, облучение ДМВ вызывало значительные изменения проводимости БЛМ, модифицированные различными агентами (аламетицин, грамицидин С, нистатин, амфотерицин Б и ТФБ'). БЛМ формировали на отверстии в тонкой тефлоновой перегородке. Суммируя полученные результаты по действию ДМВ на БЛМ, можно отметить следующее:

1. Эффект ДМВ проявляется только в том случае, когда Е-вектор облучающего ЭМП направлен перпендикулярно плоскости мембраны. При параллельной ориентации эффект исчезает.
2. Эффект зависит от концентрации электролита. Для получения четкого ответа концентрация электролита должна быть выше концентрации физиологического раствора, т.е. $> 0,1 \text{ M}$.
3. Время выхода эффекта на стационарный уровень составляет 2-4 с.
4. Все особенности проявления эффекта легко объясняются тепловым механизмом действия ДМВ.
5. Изменения проводимости БЛМ, сформированных на отверстии диаметром 0,5 мм и модифицированных различными агентами, эквиваленты нагреву БЛМ на $6,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$ при облучении с УПМ=200 Вт/кг.

Рис. 12

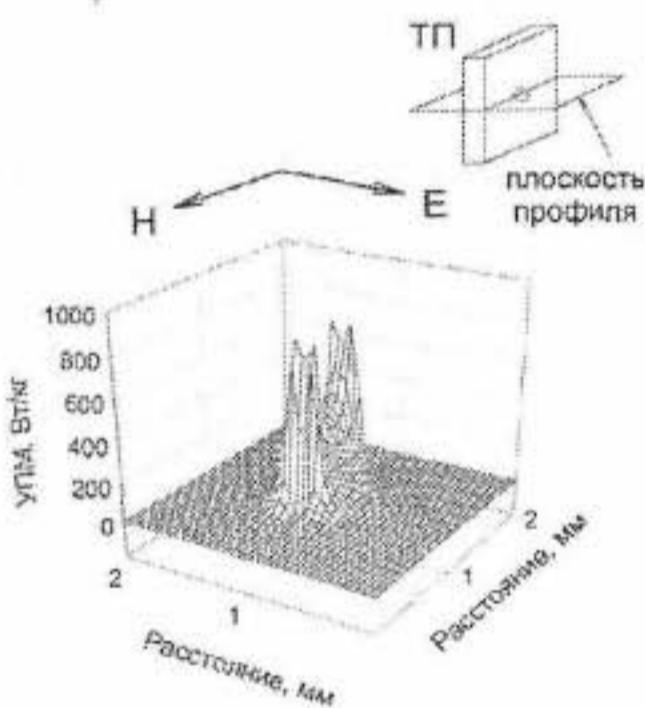


Рис. 13

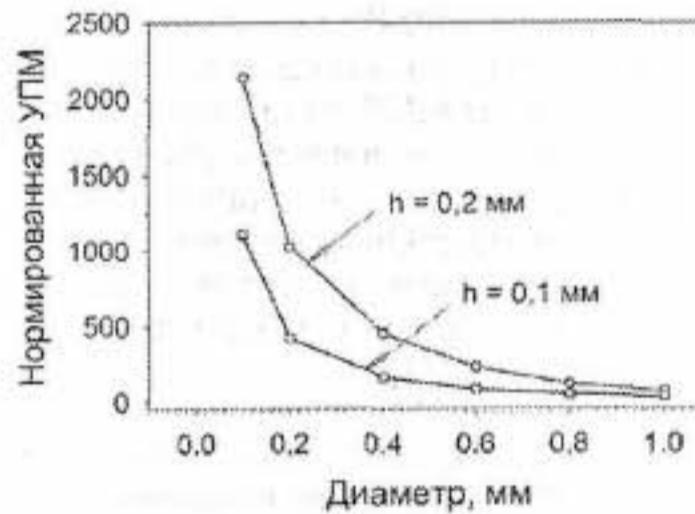


Рис. 12. Трехмерный график распределения УПМ в горизонтальной плоскости, проведенной через центр мембраноформирующего отверстия перпендикулярно тефлоновой перегородке. На вкладке изображены расположение тефлоновой перегородки (ТП) и плоскости профиля относительно векторов ЭМП. Толщина тефлоновой перегородки 0,1 мм, диаметр отверстия 0,5 мм. Электролит- 1,0 М раствор NaCl.

Рис. 13. Зависимость нормированной УПМ в центре мембраноформирующего отверстия от размеров отверстия и толщины тефлоновой перегородки h . Раствор электролита 1,0 М NaCl.

Нами были проведены расчеты распределения Е-поля и УПМ в мембраноформирующем отверстии в тефлоновой перегородке, моделируя условия облучения, использованные в данных экспериментах. Было показано, что отверстие в

тефлоновой перегородке является хорошим концентратором как УПМ, так и Е-поля (рис. 12). С уменьшением диаметра отверстия или с увеличением толщины перегородки УПМ в отверстии резко возрастает (рис. 13). Эффект повышенной концентрации Е-поля в отверстии можно объяснить следующим образом. Из условия непрерывности вектора электрической индукции на границе раздела двух сред тefлоновая перегородка-раствор электролита нормированное Е-поле в тefлоновой перегородке ($E_{\text{тef}}/E_{\text{раст}}$) определяется, используя следующее отношение диэлектрических проницаемостей: $\text{ОДП} = |\epsilon_{\text{раст}}|/|\epsilon_{\text{тef}}|$. Е-поле внутри отверстия, нормально пересекающего тefлоновую перегородку, может достигать максимальной величины, равной $E_{\text{тef}}$, при условии, что диаметр отверстия крайне мал, а его длина достаточно большая, чтобы минимизировать краевые эффекты на границах перегородки [Feupman et al., 1964]. Это следует из того, что тангенциальные составляющие Е-поля на границе тefлон - электролит в отверстии непрерывны вдоль границы раздела. Для 1,0 М раствора NaCl и тefлона ОДП=82. Следовательно, Е-поле в отверстии теоретически может быть в 82 раза выше, чем в растворе. Повышенное поглощение энергии ММВ кровеносными сосудами, пересекающими нормально жировой слой, объясняется аналогичным образом.

Высокая концентрация Е-поля и УПМ в отверстии могут приводить к перегреву отверстия на 6,9°C, что хорошо совпадает с температурой перегрева мембранны, оцененной выше. Таким образом, как экспериментальные измерения, так и теоретические расчеты указывают на то, что эффекты ДМВ на БЛМ обусловлены повышенным поглощением микроволновой энергии в мембраноформирующем отверстии и последующим его нагревом. При этом БЛМ, модифицированные различными агентами, служили в роли безартефактного сенсора температуры. В случае облучения мембран ММВ Е-поле было всегда направлено параллельно плоскости мембранны. Возможно, поэтому эффекты ММВ были относительно слабыми.

Влияние ММВ на калиевые и кальциевые токи нейронов прудовика. Нами детально исследованы температурные зависимости выходящего быстрого калиевого тока (I_a), а также влияние ММВ на пиковую амплитуду, кинетику активации и инактивации, активационные и инактивационные характеристики I_a , регистрируемые в диализированном нейроне прудовика. Показано, что пиковая амплитуда тока ($Q_{10}=2,4$) и кинетика активации и инактивации ($Q_{10}=3,0$) значительно увеличивались с ростом температуры. Излом в графике Аррениуса кинетики инактивации при температуре $16 \pm 0,7^\circ\text{C}$ указывало на наличие фазового перехода в мембране при температуре излома [Silvius and McElhaney, 1982; Horemans et al., 1982].

Облучение ММВ с частотой 42,25 ГГц вызывало, во-первых, увеличение пиковой амплитуды тока (рис. 14) и, во-вторых, заметно изменяло кинетику активации и инактивации тока. Рис. 15 демонстрирует зависимость пиковой амплитуды тока от УПМ. Как видно, эта зависимость близка к линейной, но лучше аппроксимируется экспоненциальной функцией. Мы сравнили изменения пиковой амплитуды I_a , вызванные ММВ-облучением и обычным нагревом, при условии, что прирост температуры в обоих случаях был одинаковым. Как облучение ММВ, так и обычный нагрев приводили к увеличению пиковых значений амплитуды калиевого тока на одну и ту же величину (рис. 15). Изменения других характеристик тока также были эквивалентны соответствующему приросту температуры. Величина эффекта ММВ при изменении расстояния от антенны соответствовала распределению температуры, а не распределению плотности мощности или Е-поля. Эти результаты указывают на то, что изменения тока во время облучения были вызваны в основном тепловым действием ММВ. Мы не обнаружили заметных сдвигов активационных и инактивационных характеристик I_a . Обратимые изменения тока и скорости инактивации при температуре фазового перехода были статистически неразличимы от аналогичных изменений, вызываемых обычным нагревом. В присутствии этанола эффект ММВ на I_a полностью исчезал. Из этого следует, что при высоких интенсивностях облучения этанол мог

бы быть использован для защиты нейронов от теплового шока. При исследовании влияния ММВ на поверхностный заряд мембранны мы нашли, что изменения плотности поверхностного заряда и константы связывания ионов Ca^{2+} либо слишком малы, что они находятся в пределах ошибки измерения, либо вовсе отсутствуют. Наши данные также указывают на то, что облучение не оказывает влияния на двойной электрический слой и не вызывает заметных конформационных изменений канала.

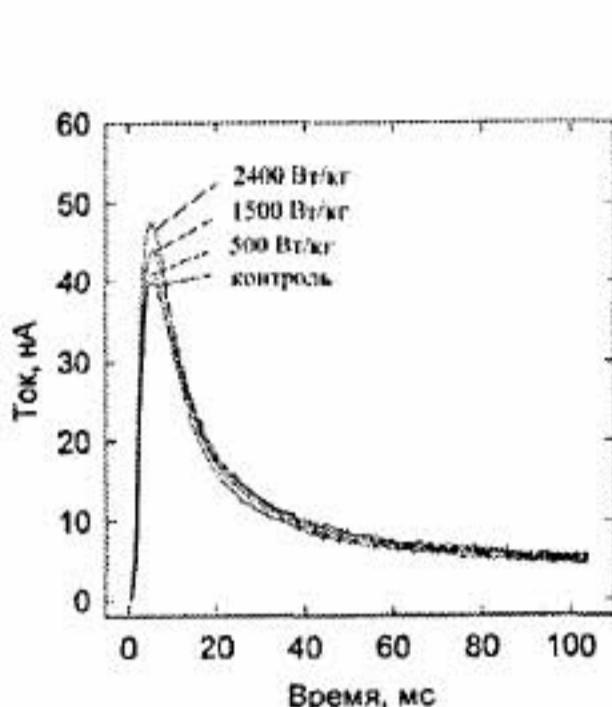


Рис. 14.

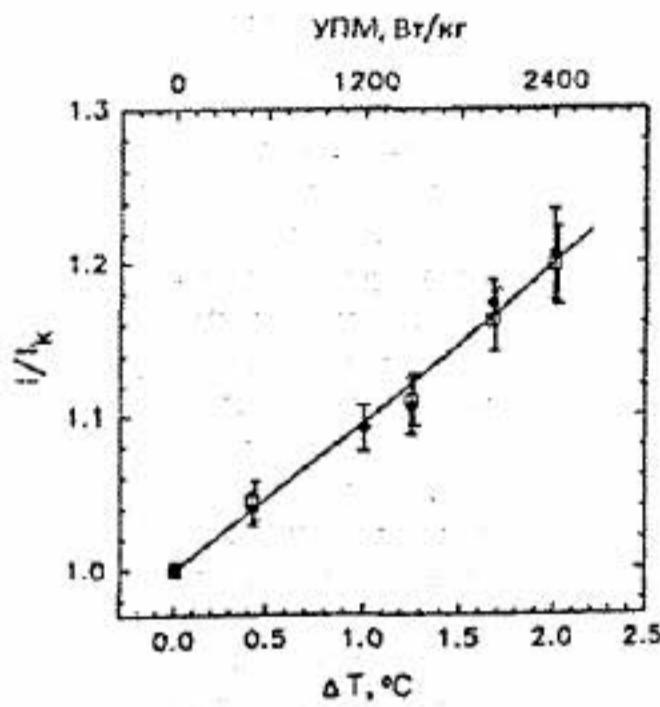


Рис. 15.

Рис. 14. Эффект ММВ-облучения с частотой 61,22 ГГц на быстрый калиевый ток. Токи регистрировались до облучения (контроль) и через 1 мин после начала облучения с разной УПМ.

Рис. 15. Сравнение изменений пиковой амплитуды быстрого калиевого тока, вызванных облучением ММВ в течение 5 мин (закрытые кружочки) и обычным нагревом (открытые квадратики). Пиковые амплитуды нормированы относительно пиковой амплитуды тока до облучения. Значения УПМ, соответствующие ΔT , показаны в верхней части графика.

Нам представлялось важным в свете гипотезы Фрёлиха исследовать частотную зависимость эффекта ММВ на I_a в интервале частот 60,22-62,22 ГГц с шагом 0,1 ГГц около терапевтической частоты 61,22 ГГц, широко используемой в клинике. Это продиктовано следующими соображениями:

- В литературе описаны острорезонансные биологические эффекты ММВ с полушириною от 8 до 100 МГц (см., например, [Grundler and Keilmann, 1983; Гапеев, 2006]).

- Известно, что кислород имеет полосу поглощения как раз в этом интервале частот и этим связываются некоторые возможные механизмы действия ММВ [Бецкий и др., 2004; Radzievsky et al., 2008].

- При исследовании частотно-зависимых эффектов ММВ на БЛМ оставался открытым вопрос о роли мембранны в этих эффектах, т.е. насколько важно для проявления резонансного эффекта ММВ иметь чисто липидную или биологическую мембранны.

Проведенные детальные исследования не выявили резонансных эффектов ММВ на каналы I_a . Это может означать, что резонансные частоты Фрёлиха, если они существуют для нейрональной мембранны, лежат в другом частотном диапазоне. Из-за отсутствия резонансного эффекта также трудно предсказать влияние свойств мембранны на резонансные

частоты поперечных электрических колебаний в мембране. Очевидно также, что кислород вряд ли участвует в эффекте ММВ на I_o .

Ввиду важности ионов кальция в различных клеточных процессах и генерации потенциалов действия, исследование влияния ММВ на кальциевые токи нейронов представляло большой интерес. Мы исследовали влияние температуры и ММВ-облучения на кальциевый ток в диализированных нейронах прудовика. Некоторые параметры кальциевого тока (пиковая амплитуда, кинетика активации, активационная характеристика) проявляли большую термочувствительность. Температурный коэффициент Q_{10} для пиковой амплитуды зависел от мембранных потенциала. Значение $Q_{10}=3,3$ при $V_m=-10$ мВ уменьшалось до $1,8 \pm 0,1$ при $V_m \geq 50$ мВ. Значение Q_{10} для кинетики активации составляло $3 \pm 0,1$. Постоянны времена инактивации имели относительно низкие значения Q_{10} ($1,6 \pm 0,2$ для τ_i).

При действии ММВ заметно увеличивались пиковая амплитуда тока и скорость активации. Скорость инактивации увеличивалась незначительно. Рассчитанные значения прироста температуры, эквивалентные изменениям пиковой амплитуды и константы скорости активации и инактивации кальциевого тока, были равны приросту температуры, измеренного непосредственно термопарой. Таким образом, механизм действия ММВ на кальциевый ток, также как и на калиевый ток, был чисто тепловым. Следует отметить, что нетепловые эффекты ММВ обнаружены, главным образом, при исследовании ионных каналов, регулятором которых является кальций. Возможно, что различие в типе ионных каналов - кальций регулируемые или потенциалзависимые - и определяет их ответ на действие ММВ [Гапеев, 2006].

Эффекты ММВ на электрическую активность пейсмекерных нейронов прудовика. Для изучения влияния ММВ на возбудимые структуры, включая терморецепторы и другие нервные окончания в коже, в качестве модели были использованы идентифицированные нейроны прудовика БП-4, которые в нормальных физиологических условиях генерируют ПД с регулярной частотой. ММВ-облучение нейрона БП-4 вызывало двухфазное изменение частоты генерации ПД (рис. 16). После включения облучения частота генерации ПД первоначально уменьшалась пропорционально УПМ (на $69 \pm 22\%$ при УПМ = 4200 Вт/кг), а затем постепенно увеличивалась до уровня, превышающего контрольный уровень (на $68 \pm 21\%$ при УПМ = 4200 Вт/кг). После выключения облучения наблюдалась обратная картина: частота генерации ПД сначала кратковременно увеличивалась, а затем постепенно возвращалась к новому уровню, часто близкому к исходному. Наблюдаемые эффекты при одной и той же УПМ не зависели от частоты облучения (61,22 или 75,00 ГГц). Показано, что эффекты ММВ на ЭА нейронов качественно и количественно эквивалентны нагреву клетки, вызываемому облучением, и скорее всего, обусловлены тепловым действием ММВ (рис. 17).

Мембранный потенциал возбудимых клеток, включая нейроны моллюска, складывается из двух компонент: одна компонента генерируется Na^+ -насосом, а другая определяется пассивным транспортом ионов. Эта компонента, зависящая от ионных градиентов и их проницаемостей, в первую очередь определяется отношением проницаемостей P_{Na^+}/P_K в соответствии с уравнением Гольдмана [Gorman and Marmot, 1970a,b; Marmot and Gorman, 1970; Moreton, 1968; Mullins and Noda, 1963]. При нагревании эта компонента приводит к деполяризации мембраны вследствие увеличения отношения P_{Na^+}/P_K . Для объяснения механизмов, лежащих в основе изменений ЭА при нагревании и облучении ММВ, мы предлагаем следующую модель. При включении облучения, например, с УПМ = 4200 Вт/кг физиологический раствор и клетка нагреваются в течение 20 с примерно до стационарного уровня, т.е. на $2,2^\circ\text{C}$. Нагрев пропорционален УПМ. Быстрый нагрев клетки приводит к активации Na^+ -насоса и гиперполяризации мембраны. Поскольку скорость гиперполяризации мембраны сравнима со скоростью роста температуры, то постоянная времени гиперполяризации лежит в пределах нескольких секунд. Следовательно, в течение

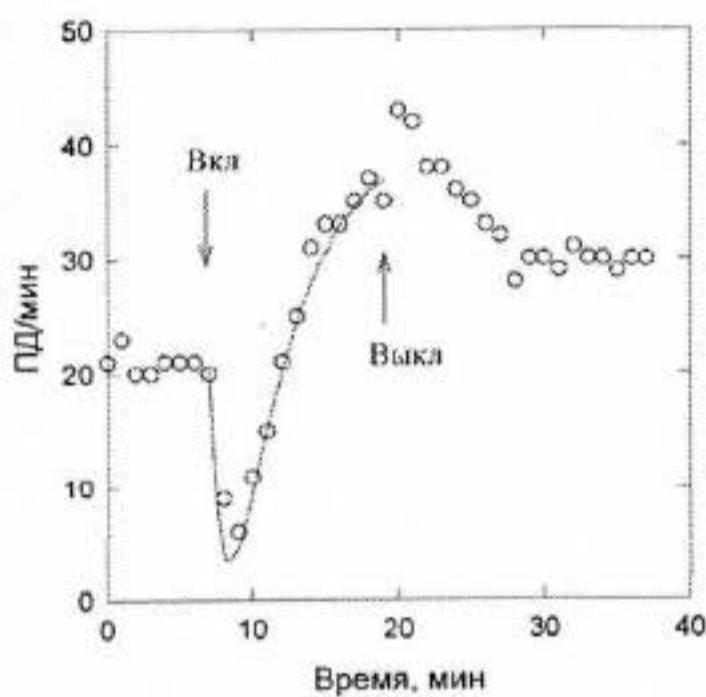


Рис. 16.

Рис. 16. Изменение частоты генерации ПД нейрона БП-4 при облучении с УПМ равной 3150 Вт/кг. Сплошная линия показывает соответствие модели экспериментальным данным.

Рис. 17. Зависимость динамического торможения ЭА нейрона БП-4 от УПМ и начальной скорости роста температуры при облучении ММВ (кружочки) и обычном нагреве (квадратик). Изменения динамического торможения выражены в процентах к контролю. Результаты представлены как среднее значение \pm СО.

первых 20 с облучения происходит активация Na^+ -насоса, приводящего к гиперполяризации мембраны, до уровня, характерного для данной температуры. Для получения значимого гиперполяризующего потенциала большую роль играет скорость роста температуры. Минимальная скорость роста температуры для уменьшения частоты генерации ПД на 3% составляет $0,0025^{\circ}\text{C}/\text{с}$ ($n=6$). Одновременно с этим, увеличивается отношение проницаемостей P_{Na}/P_K . Этот процесс, приводящий к деполяризации мембраны, развивается с постоянной времени 3,7 мин и выходит на стационарный уровень значительно позже, чем гиперполяризация мембраны. В результате численного моделирования мы получаем двухфазное изменение ЭА, показанное в виде сплошной линии на рис. 16. Очевидно, что изменение мембранных потенциалов за счет увеличения отношения P_{Na}/P_K намного больше,

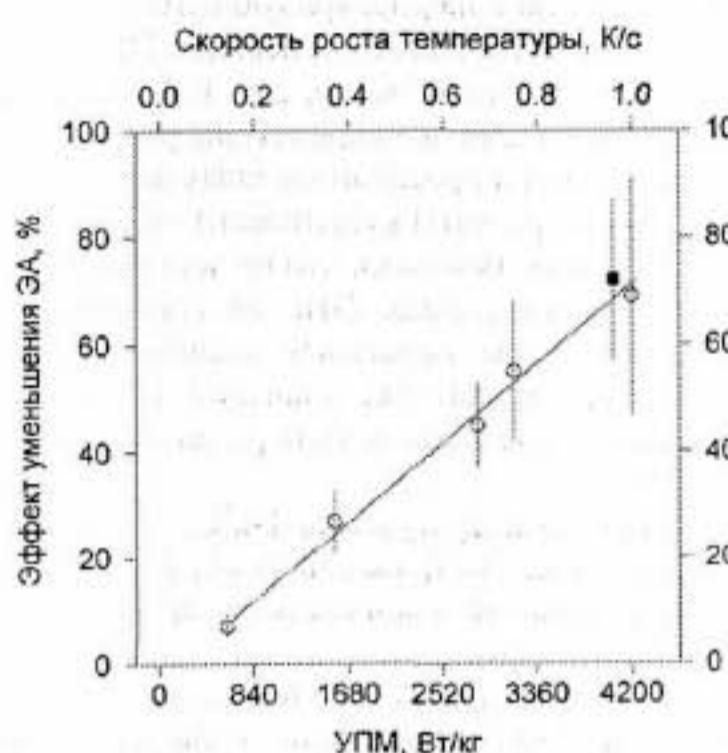


Рис. 17.

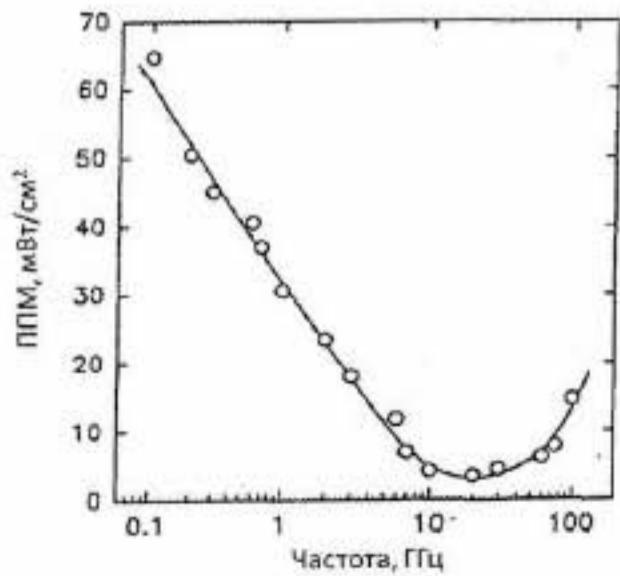


Рис. 18. Частотная зависимость ППМ, вызывающей 3% динамическое торможение ЭА.

чем изменение гиперполяризующего потенциала. Это следует из того, что уровень второй фазы увеличения частоты генерации ПД значительно выше начального уровня ЭА до начала облучения. Таким образом, для наблюдения двухфазного изменения какого-либо эффекта необходимо иметь две подсистемы регуляции основного процесса, меняющиеся ответ системы при облучении в противоположных направлениях с разной скоростью.

Наши расчеты зависимости пороговых значений УПМ, вызывающих 3% торможение ЭА, от частоты показали, что на частотах 1 и 75 ГГц пороговые значения УПМ равны 9 и 110 Вт/кг, соответственно. Эти значения УПМ соответствуют ППМ 30 и 4 мВт/см², т.е. высокочастотные пороговые значения ППМ значительно ниже низкочастотных. Кривая зависимости пороговых значений ППМ от частоты приведена на рис. 18. Как видно, использованные нами в экспериментах частоты облучения лежат в области максимального эффекта.

Рост температуры на 1-2°C, вызываемый некоторыми терапевтическими аппаратами [Бецкий и др., 1989; Logani et al., 2006], несомненно оказывает влияние на термочувствительные нервные окончания в коже. К их числу можно отнести терморецепторы и механорецепторы.

Влияние ММВ на электрическую активность разных ветвей седалищного нерва. Показано, что седалищный нерв играет ключевую роль в инициировании эффекта гипоалгезии при облучении ММВ. Мы провели исследование влияния ММВ на ЭА кожных нервных окончаний, иннервированных одним из ответвлений седалищного нерва - икроножным нервом. Нами обнаружено два вида ответов икроножного нерва на облучение ММВ (рис. 19). Во-первых, облучение рецептивного поля нерва приводило к торможению

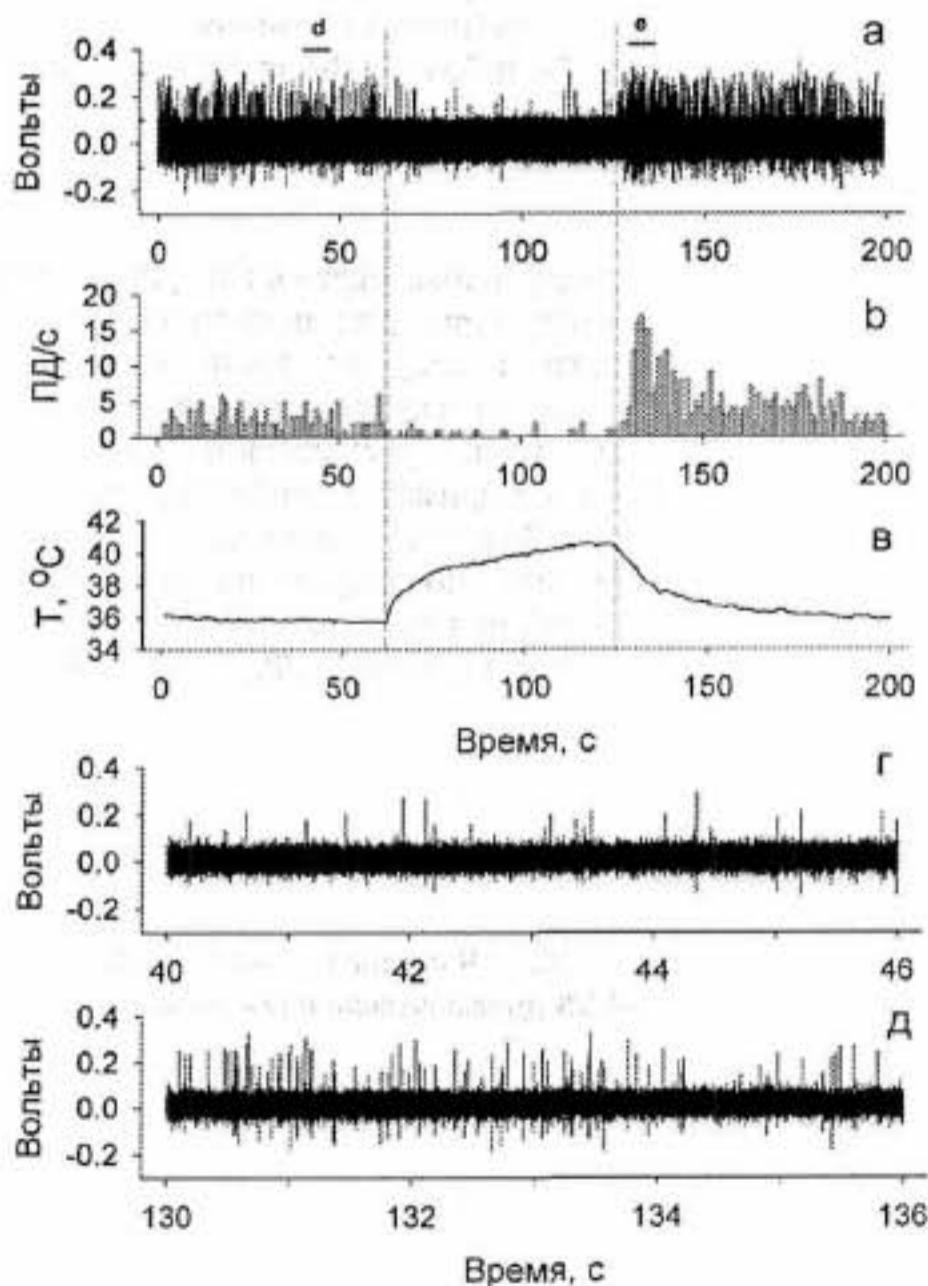


Рис. 19. Эффект ММВ облучения на ЭА икроножного нерва. а- Запись ЭА. б- Скорость генерации ПД, ПД/с. в- Изменения поверхностной температуры кожи в рецептивном поле нерва. г и д- ЭА нерва на участках д (до облучения) и е (после выключения облучения) в увеличенном временном масштабе. Эти участки обозначены на верхнем рисунке в виде коротких горизонтальных линий. Вертикальные курсоры показывают начало и конец облучения.

спонтанной ЭА. Статистически достоверное уменьшение частоты ЭА наблюдалось при облучении с пиковой ППМ=45 мВт/см². Продолжительное облучение до 10 мин с пиковой ППМ 10, 20 и 30 мВт/см² не производило заметных изменений в ЭА икроножного нерва. Во-вторых, непосредственно после выключения облучения наблюдалось динамическое увеличение ЭА. Этот эффект имел пороговую интенсивность около 160 мВт/см².

Чтобы оценить тепловой эффект, рецептивное поле икроножного нерва облучали лучистым ИК нагревателем. Интенсивность лучистого нагревателя устанавливали на таком уровне, чтобы получить нагревы кожи, равные нагреву при облучении ММВ. Как и в случае ММВ облучения, ИК нагрев приводил к торможению ЭА (рис. 20). Однако, после выключения ИК нагревателя динамическое увеличение ЭА не наблюдалось. Таким образом, торможение спонтанной ЭА икроножного нерва во время облучения ММВ можно объяснить чисто тепловым эффектом облучения. Динамическое же увеличение ЭА после выключения ММВ-облучения является специфическим, т.е. нетепловым эффектом ММВ.

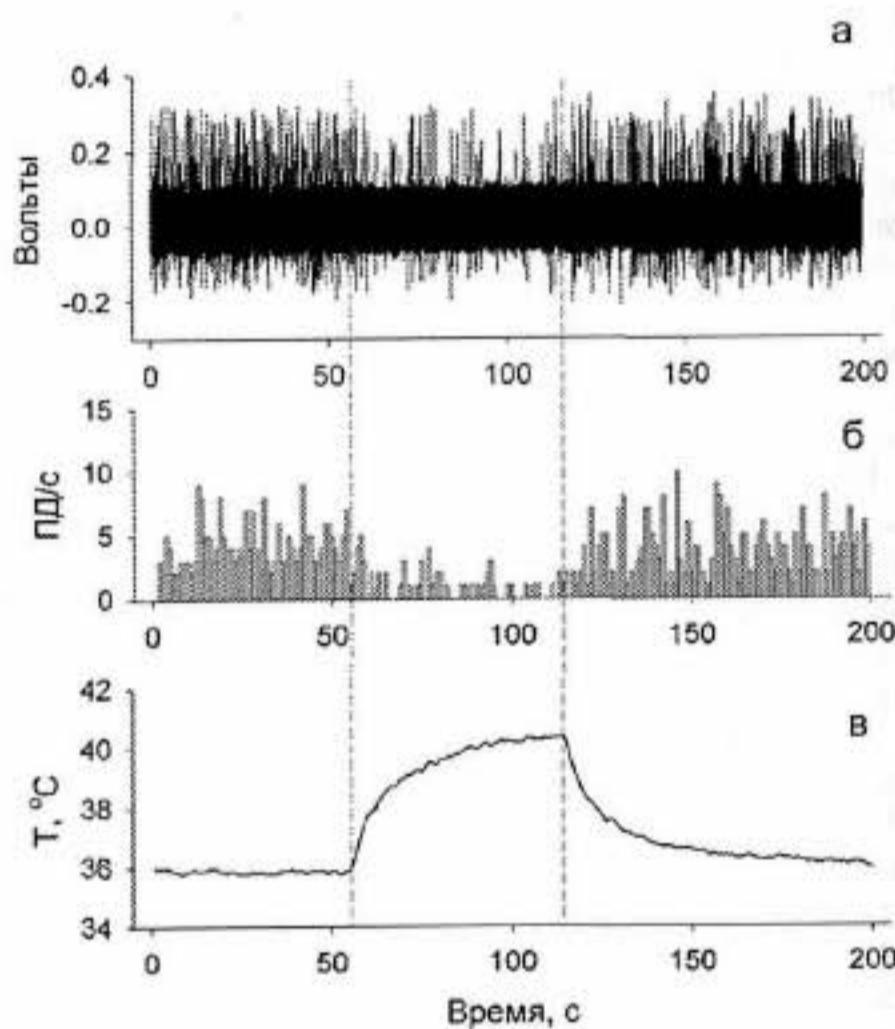


Рис. 20. Эффект ИК нагрева на ЭА икроножного нерва. а- Спонтанная ЭА. б- Скорость генерации ПД (ПД/с). в- Температура поверхности кожи. Вертикальные курсоры показывают начало и конец облучения.

Известно, что при комнатной температуре у мышей только холодовые рецепторы генерируют спонтанную ЭА. Быстрое понижение температуры при нанесении на кожу капли ацетона приводило к динамическому увеличению ЭА, типичному для холодовых рецепторов. Зависимость статического ответа от температуры имела колоколообразный вид с максимумом при температуре 30°C. Такого вида зависимость ЭА от статической температуры является типичной для холодовых рецепторов. В большинстве опытов исходная температура кожи была выше 30°C. Следовательно, повышение температуры при облучении ММВ или при лучистом нагреве должно было приводить к торможению ЭА холодовых рецепторов, что и наблюдалось в опытах. Таким образом, можно утверждать, что эффект торможения ЭА обусловлен ингибированием ЭА холодовых рецепторов при нагреве кожи.

Для объяснения генерации динамического увеличения ЭА в ответ на выключение ММВ - облучения выдвинуты три предположения. Наиболее вероятным механизмом,

лежащим в основе этого эффекта, может быть дегрануляция тучных клеток. Предполагается, что ММВ - облучение первоначально приводит к дегрануляции тучных клеток, которые высвобождают нейромедиаторы. Известно, что тучные клетки располагаются в коже очень близко к нервным окончаниям [Skofitsch et al., 1985; Botchkarev et al., 1997]. Освобожденные нейромедиаторы (гистамин, субстанция Р, серотонин, и т.д.) могут легко достичь нервных окончаний и возбудить их. Однако, во время ММВ облучения мы не обнаруживали никаких признаков активации нерва. Это могло бы быть за счет гиперполяризации мембраны [Viana et al., 2002], которая значительно подавляла активацию нервных окончаний нейромедиаторами. Однако, после выключения облучения нейромедиаторы могли бы эффективно взаимодействовать с нервными окончаниями и активировать их. Некоторые результаты прямо подтверждают эту гипотезу. Например, дегрануляция тучных клеток соединением 48/80 устраивала динамический ответ нерва. Второе облучение ММВ в опытах с последовательным облучением приводило к быстрому ингибированию динамического ответа, инициированного первым облучением ММВ. Длительное облучение уменьшало динамический ответ, указывая на то, что рецепторы, участвующие в этом эффекте, подвергаются десенситизации. Наиболее вероятно, что в эффекте динамического увеличения ЭА участвуют холодовые рецепторы и низко-пороговые С-механорецепторы, которые демонстрируют динамические разряды спайков после удаления стимула (постоянная сила, тепло) [Leem et al., 1993]. Электромагнитное поле ММВ высокой интенсивности вблизи мембран нервных окончаний могло бы быть одним из таких стимулов, способных активировать нервные окончания.

Возможная роль первых эффектов в терапевтическом действии ММВ. Динамическое увеличение ЭА после выключения ММВ облучения, по-видимому, является специфическим, т.е. нетепловым, эффектом ММВ, поскольку ИК нагрев не воспроизводил этот эффект. Динамический ответ появляется при интенсивностях облучения (160 мВт/см^2) много больших терапевтических. Поэтому участие нервных волокон, генерирующих динамический ответ, в терапевтических эффектах не очевидно.

Нами было показано, что ММВ облучение при терапевтических интенсивностях $10-30 \text{ мВт/см}^2$ не влияло на ЭА икроножного нерва, иннервирующего лапу мыши. Мы характеризовали интенсивность ММВ пиковым значением ППМ. Однако, во многих сообщениях о терапевтическом использовании ММВ дается только средняя ППМ, рассчитанная делением выходной мощности терапевтического аппарата на площадь апертуры пирамидальной антенны. Распределение ППМ, излучаемой пирамидальной антенной, не является однородным. Пиковая мощность при средней ППМ= 10 мВт/см^2 может превышать 23 мВт/см^2 [Alekseev and Ziskin, 2003]. Например, в работе [Radzievsky et al., 2008] показано, что при облучении мышей с частотой 61,22 ГГц и средней ППМ= $13,3 \text{ мВт/см}^2$, вызывающим эффект гипоалгезии, пиковая ППМ составляла 56 мВт/см^2 . Во время терапевтического облучения поверхностная температура кожи может подниматься на $1,0-1,5^\circ\text{C}$. Поэтому при более высоких средних интенсивностях, как например, при $20-30 \text{ мВт/см}^2$, пиковая ППМ может превышать пороговую интенсивность (45 мВт/см^2) для инициирования торможения ЭА.

Таким образом, нами показано, что обезболивающий эффект ММВ устраняется при перерезке седалищного нерва животных. При терапевтических интенсивностях только нервные волокна холодовых рецепторов отвечают на ММВ-облучение изменением своей спонтанной ЭА. Следовательно, торможение ЭА может играть определенную роль в терапевтических эффектах ММВ. По всей вероятности, эффект торможения ЭА вызывается тепловым действием ММВ. Данный вывод подкрепляется исследованиями ММВ - воздействия на мембранны и нейроны, т.е. элементы и модели кожных рецепторов, в которых все эффекты ММВ были чисто тепловыми.

Глава 4. Заключение. В первой части Главы 3 описаны методы и подходы, позволяющие качественно и количественно охарактеризовать параметры облучающего ЭМП миллиметрового диапазона, включая нагрев ткани, в любой точке многослойной кожи человека и животных.

При решении задач практической дозиметрии показано, что фантомы, состоящие из тонких поглощающих пленок, могут быть использованы для измерения распределения УПМ в ближней зоне антенны при условии, что распределение УПМ не зависит от их толщины. Тонкие фантомы не могут быть использованы для определения УПМ в поглощающих полубесконечных средах, таких как биологические растворы или кожа. В результате теоретического анализа предложена оптимальная конструкция диэлектрической плоскопараллельной кюветы для облучения биологических растворов.

В настоящей работе электрические свойства разных слоев кожи были определены, используя результаты измерения отражения ММВ от кожи. Предложен практический способ определения содержания воды в коже, который может быть использован в медицине и косметике.

Показано, что степень гидратации тонкого рогового слоя кожи предплечья практически не влияет на отражение ММВ. В коже ладони с толстым роговым слоем отражение ММВ становится очень чувствительным к изменению гидратации рогового слоя.

Глубина проникновения ММВ в кожу предплечья и ладони заметно падает с увеличением частоты. ММВ практически полностью поглощаются в пределах эпидермиса и дермы человека. В коже мышей ММВ достигают мышечного слоя. Это может приводить к биологическим эффектам ММВ на мышцу. Если первичная мишень воздействия ММВ расположена в мышце, то экстраполяция эффектов, полученных в экспериментах с мышами, на человека будет неправомерной.

Наличие в растворе и коже объектов с электрическими свойствами отличными от среды (термопара, пузырек воздуха, пора или волос) приводит к заметному искажению ЭМП в области расположения этих объектов. В коже вблизи потовых пор и волос имеют место высокие градиенты электрического поля, которые могут быть причиной некоторых биологических эффектов. Однако, внутри волоса и поры поглощение ММВ незначительно. Показано, что ТП, ориентированная перпендикулярно Е-полю и помещенная либо в раствор, либо на поверхность кожи, не может вносить заметных искажений в измерение прироста температуры. Теоретические расчеты подкреплены экспериментальными измерениями.

При ММВ-облучении кожи распределение УПМ в кровеносных сосудах зависит от размеров кровеносных сосудов, их ориентации относительно Е- поля и диэлектрических свойств окружающей ткани. При ориентации длинного кровеносного сосуда параллельно Е-вектору УПМ внутри кровеносного сосуда превышает УПМ в окружающей дерме в 1,4 раза.

Особенности поглощения ММВ кровеносными сосудами, расположенными в дерме и жировом слое мыши, качественно совпадают с результатами, полученными для дермы человека. Поглощение энергии ММВ значительно возрастает в кровеносных сосудах, пронизывающих жировой слой и ориентированных параллельно Е-полю. Повышенное поглощение ММВ осуществляется как за счет увеличения амплитуды Е- поля в кровеносном сосуде, так и в результате более высокой проводимости крови относительно окружающей ткани. При облучении кругового или эллиптического цилиндров, представляющих модели конечности мыши, максимумы поглощения появляются в кровеносных сосудах, расположенных в латеральных областях конечности.

Показано, что локальный нагрев кожи при постоянной пиковой ППМ уменьшается с уменьшением размеров излучающего антеннной луча, с увеличением перфузии крови и с уменьшением частоты. Хотя ММВ поглощаются в тонком слое кожи ($\delta \sim 0,6$ мм), тепло проникает значительно глубже в ткани. Используя многослойные модели, показано, что наличие жирового слоя приводит к появлению скачка градиента температуры между кожей и мышцей. Разность температур между кожей и мышцей, а также прирост температуры в коже

после облучения ММВ, увеличиваются с ростом толщины жирового слоя. Теоретически и экспериментально доказано преимущества использования ГУБТ для описания гипертермии кожи.

Предложен новый метод определения диэлектрических свойств материалов, содержащих воду (кожа, фантомы кожи), основанный на измерении кинетики нагрева во время ММВ-облучения.

На основании анализа различных методов практической дозиметрии ММВ предложен метод определения распределения ППМ и УПМ в коже по начальной скорости нагрева объекта. Для точного определения начальной скорости роста температуры или УПМ необходимо экспериментальную кинетику роста температуры аппроксимировать УБТ.

Во второй части Главы 3 показано, что облучение мышей ММВ на участках тела с плотной иннервацией (лапа, нос) приводит к эффекту гипоалгезии. После облучения лапы животные выдерживали болевую стимуляцию холодом почти в два раза дольше, чем до облучения. Деиннервация облучаемой лапы путем перерезки седалищного нерва приводит к полному исчезновению эффекта гипоалгезии. Таким образом, этот результат ясно демонстрирует, что взаимодействие ММВ с кожными нервными окончаниями является существенным шагом в инициализации биологических эффектов ММВ.

Детально исследованы эффекты ММВ на искусственные мембранны. Облучение БЛМ в отсутствие модификаторов приводит к незначительному увеличению проводимости и уменьшению емкости БЛМ. При модификации БЛМ различными агентами облучение ММВ вызывает увеличение проводимости БЛМ. При варьировании частоты облучения в диапазоне 54-76 ГГц нами не обнаружены резонансно-подобные изменения тока. Импульсная модуляция ММВ также не выявила частотнозависимых особенностей эффекта. Показано, что все изменения проводимости БЛМ независимо от присутствия или отсутствия модифицирующих агентов обусловлены тепловым действием ММВ.

В отличие от ММВ, облучение ДМВ вызывало значительные изменения проводимости БЛМ, модифицированных различными агентами. Проведенные расчеты распределения Е- поля и УПМ в мембраноформирующем отверстии в тефлоновой перегородке показали, что отверстие в тефлоновой перегородке является хорошим концентратором Е- поля и УПМ. Повышенная концентрация Е- поля и УПМ приводит к росту температуры в отверстии, совпадающему с температурой перегрева мембранны, оцененной из экспериментов. Таким образом, как экспериментальные измерения, так и теоретические расчеты указывают на то, что эффекты ДМВ на БЛМ обусловлены повышенным поглощением микроволновой энергии в мембраноформирующем отверстии и последующим его нагревом.

Изучены эффекты ММВ на быстрые калиевые и кальциевые токи в нейрональных мембранных моллюска *Lymnaea stagnalis*. Показано, что изменения разных характеристик токов можно объяснить в основном тепловым действием облучения. Нами не обнаружено специфических (нетепловых) эффектов ММВ как на проводимость каналов, так и на воротный механизм каналов, т.е. на конформацию каналььных белков и окружающих мембранных липидов.

Изучены эффекты ММВ на ЭА идентифицированных пейсмекерных нейронов прудовика БП-4. Показано, что облучение вызывает двухфазное изменение ЭА: быстрое первоначальное торможение и более медленное увеличение ЭА. Показано, что скорость роста температуры при ММВ-облучении играет определяющую роль в эффекте торможения ЭА. Увеличение же частоты генерации ПД, по-видимому, вызвано увеличением отношения проницаемостей для натрия и калия, приводящего к деполяризации мембранны. Моделирование частотной зависимости эффекта торможения ЭА выявило, что пороговые ППМ, необходимые для инициирования эффекта, лежат в диапазоне частот ММВ с минимумом при 20 ГГц.

Проведены исследования влияния ММВ на ЭА одного из ответвлений седалищного нерва- икроножного нерва. Нами обнаружены два вида ответов икроножного нерва на облучение. Во-первых, облучение рецептивного поля нерва приводит к торможению спонтанной ЭА. Во-вторых, непосредственно после выключения облучения наблюдается динамическое увеличение ЭА. Предполагается, что эффект торможения вызван ответом холодовых рецепторов на нагрев рецептивного поля нерва. Динамическое же увеличение ЭА после выключения ММВ-облучения является специфическим, т.е. нетепловым эффектом ММВ. Для объяснения этого эффекта предложен механизм дегрануляции тучных клеток. Показано, что при терапевтических интенсивностях только нервные волокна холодовых рецепторов отвечают на ММВ-облучение торможением своей ЭА. Следовательно, торможение ЭА может играть определенную роль в терапевтических эффектах ММВ.

ВЫВОДЫ

1. Предложены методы практической дозиметрии ММВ в биологическом эксперименте и клинической практике. Показано, что распределение плотности мощности излучения в ближней зоне антенны можно определить, измеряя прирост температуры на поверхности кожи или фантома с помощью ИК камеры за время облучения не более 5 с. При этом тонкие поглощающие фантомы не могут быть использованы для определения УПМ в биологических растворах и коже. Рассчитаны оптимальные размеры диэлектрической кюветы для эффективного облучения биологических растворов. Впервые показано, что для точного определения УПМ необходимо экспериментальную кинетику нагрева кожи аппроксимировать уравнением биотеплопроводности. Предложен новый метод определения диэлектрических свойств биологических тканей и их моделей, основанный на измерении кинетики нагрева во время ММВ-облучения.

2. Впервые, используя методы исследования отражения ММВ от кожи, определены диэлектрические свойства разных слоев кожи. Рассчитаны глубина проникновения ММВ в многослойную кожу, распределение плотности мощности и УПМ в разных слоях кожи. Показано, что ММВ практически полностью поглощаются в пределах эпидермиса и дермы человека. В отличие от кожи человека ММВ проникают глубоко в кожу мышей и достигают мышечного слоя. Если первичная мишень воздействия ММВ расположена в мышце, то экстраполяция эффектов, полученных в экспериментах с мышами, на человека будет неправомерной. Метод рефлектометрии ММВ протестирован для определения гидратации кожи при действии различных увлажнителей и может быть рекомендован для измерения влажности кожи на практике.

3. Впервые показано, что наличие в растворе и коже объектов (термопара, пузырек воздуха, пора, волос или кровеносный сосуд) с электрическими свойствами, отличными от электрических свойств среды, приводит к заметному искажению ЭМП в области расположения этих объектов. В коже вблизи потовых пор и волос образуются высокие градиенты электрического поля. Однако, внутри волоса и поры поглощение ММВ незначительно. При параллельной ориентации кровеносных сосудов относительно Е-поля наблюдается селективное поглощение энергии ММВ кровеносными сосудами дермы. В кровеносных сосудах мышей, пронизывающих жировой слой и ориентированных параллельно Е-поля, имеет место повышенное поглощение энергии ММВ, которое более чем в 30 раз может превышать УПМ в окружающей ткани. При облучении цилиндрической или эллиптической модели конечности мыши плоской волной максимумы поглощения энергии ММВ кровеносными сосудами, пронизывающими жировой слой, появляются в латеральных областях конечности.

4. Впервые изучен локальный нагрев кожи человека при ММВ-облучении в ближней зоне антенны. Показано, что локальный нагрев кожи падает с уменьшением размеров излучаемого антенной луча, частоты облучения и с увеличением перфузии крови. Доказано

преимущество использования гибридного уравнения биотеплопроводности перед традиционным уравнением биотеплопроводности для описания гипертермии кожи. Найдено, что неспецифический кровоток в гомогенной модели кожи может быть выражен через кровотоки в дерме, жировом слое и мышце в более реалистической многослойной модели. Показано, что наличие в многослойной модели жирового слоя приводит к появлению скачка градиента температуры между кожей и мышцей. Прирост температуры в коже после облучения ММВ увеличивается с ростом толщины жирового слоя.

5. Показано, что облучение мышей на участках тела с плотной иннервацией приводит к эффекту гипоалгезии. Наибольший эффект получен при облучении лапы и носа животных. После облучения лапы животные выдерживают болевую стимуляцию холодом почти в два раза дольше, чем до облучения. Впервые выявлено, что деиннервация облучаемой лапы путем перерезки седалищного нерва приводит к полному исчезновению эффекта гипоалгезии. Этот результат демонстрирует, что взаимодействие ММВ с кожными нервными окончаниями является существенным шагом в инициализации системных эффектов ММВ.

6. Впервые выявлены два типа эффектов ММВ на ЭА икроножного нерва мыши при облучении лапы в рецептивном поле нерва. Во-первых, облучение рецептивного поля нерва приводит к торможению ЭА. Во-вторых, непосредственно после выключения облучения наблюдается динамическое увеличение ЭА. Предполагается, что в основе динамического увеличения ЭА лежит дегрануляция тучных клеток, вызванная тепловым действием высокointенсивных ММВ. Эффект торможения ЭА обусловлен реакцией холодовых рецепторов на нагрев во время ММВ-облучения. Статистически достоверное торможение ЭА наблюдается при облучении с интенсивностями, вызывающими гипоалгезию у мышей.

7. В исследованиях влияния ММВ на ЭА пейсмскерных нейронов прудовика впервые показана определяющая роль скорости нагрева в облучаемом препарате в формировании биологического эффекта. Показано, что для наблюдения двухфазного изменения ЭА необходимо иметь две подсистемы регуляции мембранныго потенциала, меняющие ответ нейрона при облучении в противоположных направлениях и с разной скоростью. Такими регуляторами мембранныго потенциала в нейронах прудовика являются Na^+ -насос и ионные каналы натрия и калия, приводящие при облучении к быстрой гиперполяризации и более медленной деполяризации мембранны, соответственно.

8. Показано, что изменения емкости и проводимости БЛМ в отсутствие или в присутствии различных модификаторов не зависят от частоты облучения в диапазоне 54-76 ГГц, частоты импульсной модуляции и вызваны тепловым действием ММВ. Впервые выявлен обратимый эффект ДМВ-облучения (0,9 ГГц) на проводимость модифицированных БЛМ. Резкое изменение проводимости БЛМ объясняется повышенной концентрацией Е- поля и УПМ в мембраноформирующем отверстии в тонкой тефлоновой перегородке, и как следствие, значительным повышением температуры в этом отверстии. Показано, что изменения характеристик токов потенциалозависимых быстрых калиевых и кальциевых каналов в нейронах прудовика во время ММВ-облучения также вызваны тепловым действием ММВ. Полученные результаты подтверждают тепловой механизм действия ММВ на кожные рецепторы и нейроны на всех уровнях организации данных объектов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Richard J. Fox Foundation (USA) и NIH NCCAM, грант R01-AT002025.

Список публикаций по теме диссертации в рецензируемых журналах

1. Тяжелов ВВ, Алексеев СИ, Григорьев ПА: Изменение проводимости фосфолипидных мембран, модифицированных аламетицином, под действием высокочастотного электромагнитного поля. Биофизика 23 (4): 732-733, 1978.

2. Алексеев СИ, Тяжелов ВВ, Григорьев ПА, Сидень ГИ: Некоторые особенности микроволнового действия на бислойные мембранны, модифицированные грамицидином. Биофизика 25(4): 735-736, 1980.
3. Алексеев СИ, Тяжелов ВВ, Фаизова ЛХ, Чертищев ВВ: Влияние высокочастотного электромагнитного поля на транспорт тетрафенилбората через бислойные липидные мембранны. Биофизика 27(1): 162-163, 1982.
4. Алексеев СИ, Чертищев ВВ, Ким ЮА: К механизму микроволнового действия на проводимость бислойных липидных мембран. Биофизика 3: 545-546, 1982.
5. Акоев ИГ, Тяжелов ВВ, Коломыткин ОВ, Алексеев СИ, Григорьев ПА: Исследование механизма действия микроволн на модельные мембранные системы. Известия АН СССР, серия биологическая, №. 1: 41-52, 1985.
6. Алексеев СИ, Ильин ВИ, Тяжелов ВВ: Влияние электромагнитного излучения в дециметровом диапазоне длин волн на кальциевый ток нейронов моллюска. Биофизика 31(2): 264-268, 1986.
7. Большаков МА, Алексеев СИ: Изменение электрической активности пейсмекерных нейронов прудовика в зависимости от скорости их нагрева. Биофизика 31(3): 521-523, 1986.
8. Большаков МА, Алексеев СИ: Влияние импульсного микроволнового облучения на электрическую активность нейронов моллюсков. Известия АН СССР, серия биологическая, №. 2: 312-314, 1987.
9. Zaykin AV and Alekseev SI: Determination of surface charge near the fast potassium channels in neurons of *Lymnaea Stagnalis*. *Studia Biophys.*, Vol. 128, No. 2, 105-112, 1988.
10. Алексеев СИ, Ильин ВИ, Зайкин АВ: Температурные зависимости кальциевого тока нейронов моллюска. Известия АН СССР, серия биологическая, №. 2: 276-283, 1988.
11. Зайкин АВ, Алексеев СИ: Кинетическое исследование инактивации быстрого калиевого тока в нейронах прудовика. Биол. Мембранны 6(9): 966-976, 1989.
12. Bol'shakov MA and Alekseev SI: Bursting responses of *Lymnaea* neurons to microwave radiation. *Bioelectromagnetics* 13:119-129, 1992.
13. Alekseev SI and Zaykin AV: A Kinetic Study of A-type Current Inactivation in *Lymnaea* Neurons. *Biochim Biophys Acta* 1148:97-107, 1993.
14. Алексеев СИ: Активация быстрого калиевого тока в нейронах *Lymnaea Stagnalis*. Биол. Мембранны 10(5): 494-508, 1993.
15. Захарова НМ, Алексеев СИ, Жадин МН: Воздействие СВЧ- излучения на спонтанную импульсную активность переживающих срезов коры мозга. Биофизика 38(3), 520-523, 1993.
16. Alekseev SI and Ziskin, MC: Millimeter microwave effect on ion transport across lipid bilayer membranes. *Bioelectromagnetics* 16: 124-131, 1995.
17. Alekseev SI, Ziskin MC: Two types of A-channels in *Lymnaea* neurons. *J. Membrane Biol* 146: 327-341, 1995.
18. Alekseev SI , Ziskin MC, Kochetkova NV, Bolshakov MA: Millimeter waves thermally alter the firing rate of the *Lymnaea* pacemaker neuron. *Bioelectromagnetics* 18: 89-98, 1997.
19. Alekseev SI, Alekseev AS, Ziskin MC: Effects of alcohols on A-type K^+ currents in *Lymnaea* neurons. *J Pharm Experimental Therapeutics* 281, No 1, 84-92, 1997.
20. Alekseev SI and Ziskin MC: Effects of millimeter waves on ionic currents of *Lymnaea* neurons. *Bioelectromagnetics* , 20, 24-33, 1999.
21. Radzievsky AA, Rojavin MA, Cowan A, Alekseev SI, Ziskin MC: Hypoalgesic effect of millimeter waves in mice: Dependence on the site of exposure. *Life Sciences*, 66(21), 2101-2111, 2000.
22. Alekseev SI and Ziskin MC: Reflection and absorption of millimeter waves by thin absorbing films. *Bioelectromagnetics*, 21, 264-271, 2000.

23. Alekseev SI, Ziskin MC, Kochetkova NV: Effects of millimeter wavelength electromagnetic radiation on neurons: electrophysiological study. *Crit Rev Biomed Eng* 28(5-6), 52-59, 2000.
24. Radzievsky AA, Rojavin MA, Cowan A, Alekseev SI, Radzievsky AA Jr, Ziskin MC: Peripheral neural system involvement in hypoalgesic effect of electromagnetic millimeter waves. *Life Sci* 68(10), 1143-1153, 2001.
25. Alekseev SI and Ziskin MC: Millimeter wave power density in aqueous biological samples. *Bioelectromagnetics*, 22(4), 288-291, 2001.
26. Alekseev SI and Ziskin MC: Distortion of millimeter-wave absorption in biological media due to presence of thermocouples and other objects. *IEEE Trans Biomed Eng* 48 (9), 1013-1019, 2001.
27. Alekseev SI and Ziskin MC: Local heating of human skin by millimeter waves: A kinetics study. *Bioelectromagnetics*, 24(8), 571-581, 2003.
28. Radzievsky AA, Gordienko OV, Szabo I, Alekseev SI, Ziskin MC: Millimeter wave-induced suppression of B16 F10 melanoma growth in mice: involvement of endogenous opioids. *Bioelectromagnetics*, 25(6), 466-473, 2004.
29. Szabo I, Alekseev SI, Acs G, Radzievsky AA, Logani MK, Makar VR, Gordienko OR, Ziskin MC: Destruction of cutaneous melanoma with millimeter wave hyperthermia in mice. *IEEE Trans Plasma Sci*, 32(4), 1653-1660, 2004.
30. Radzievsky AA, Gordienko O, Cowan A, Alekseev SI, Ziskin MC: Millimeter-wave-induced hypoalgesia in mice: dependence on type of experimental pain. *IEEE Trans Plasma Sci*, 32(4), 1634-1643, 2004.
31. Alekseev SI, Radzievsky AA, Szabo I, Ziskin MC: Local heating of human skin by millimeter waves: Effect of blood flow. *Bioelectromagnetics*, 26(8), 489-501, 2005.
32. Szabo I, Kappelmayer J, Alekseev SI, Ziskin MC: Millimeter wave induced reversible externalization of phosphatidylserine molecules in cells exposed in vitro. *Bioelectromagnetics*, 27(3), 233-244, 2006.
33. Makar VR, Logani MK, Bhanushali A, Alekseev SI, Ziskin MC: Effect of cyclophosphamide and 61.22 GHz millimeter waves on T-cell, B-cell, and macrophage functions. *Bioelectromagnetics*, 27(6), 458-466, 2006.
34. Logani MK, Szabo I, Makar VR, Bhanushali A, Alekseev SI, Ziskin MC: Effect of millimeter wave irradiation on tumor metastasis. *Bioelectromagnetics*, 27(4), 258-264, 2006.
35. Alekseev SI, Ziskin MC: Human skin permittivity determined by millimeter wave reflection measurements. *Bioelectromagnetics*, 28(5), 331-339, 2007.
36. Alekseev SI, Radzievsky AA, Logani MK, Ziskin MC: Millimeter wave dosimetry of human skin. *Bioelectromagnetics*, 29: 65-70, 2008.
37. Radzievsky AA, Gordienko OV, Alekseev SI, Szabo I, Cowan A, Ziskin MC: Electromagnetic millimeter wave induced hypoalgesia: Frequency dependence and involvement of endogenous opioids. *Bioelectromagnetics*, 29: 284-295, 2008.
38. Zhadobov M, Sauleau R, Le Drean Y, Alekseev SI, Ziskin MC: Numerical and experimental millimeter wave dosimetry for in vitro experiments. *IEEE Trans Microwave Theory Techniques*, 56 (12): 2998-3007, 2008.
39. Alekseev SI, Gordienko OV, Ziskin MC: Reflection and penetration depth of millimeter waves in murine skin. *Bioelectromagnetics*, 29: 340-344, 2008.
40. Alekseev SI, Szabo I, Ziskin MC: Millimeter wave reflectivity used for measurement of skin hydration with different moisturizers. *Skin Research and Technology*, 14: 390-396, 2008.
41. Alekseev SI and Ziskin MC: Influence of blood flow and millimeter wave exposure on skin temperature in different thermal models. *Bioelectromagnetics*, 30: 52-58, 2009.
42. Alekseev SI, Ziskin MC: Millimeter wave absorption by cutaneous blood vessels: a computational study. *IEEE Trans Biomed Eng* 56(10): 2380-2388, 2009.

43. Алексеев СИ, Зискин МС, Фесенко ЕЕ: К механизму действия микроволн на бислойные липидные мембранны: Роль мембраноформирующего отверстия в тefлоновой перегородке. Биофизика 54(3): 488-491, 2009.
44. Alekseev SI, Gordienko OV, Radzievsky AA, Ziskin MC: Millimeter wave effects on electrical responses of the sural nerve in vivo. Bioelectromagnetics 31: 180-190, 2010.
45. Alekseev SI, Fesenko EE, Ziskin MC: Enhanced absorption of microwaves within cylindrical holes in Teflon film. IEEE Trans Biomed Eng 57(10): 2517-2524, 2010.
46. Alekseev SI, Ziskin MC: Enhanced absorption of millimeter wave energy in murine subcutaneous blood vessels. Bioelectromagnetics 32(6), 423-433, 2011.
47. Алексеев СИ, Зискин МС, Фесенко ЕЕ: Проблемы использования термопары для измерения роста температуры кожи во время облучения миллиметровыми волнами. Биофизика 56(3), 561-565, 2011.
48. Logani MK, Alekseev SI, Bhopale MK, Slovinsky WS, Ziskin MC: Effect of millimeter waves and cyclophosphamide on cytokine regulation. Immunopharmacol Immunotoxicol 34(1), 107-112, 2012.
49. Zhadobov M, Augustine R, Sauleau R, Alekseev S, Di Paola A, Le Quement C, Mahamoud YS, Le Drean Y: Complex permittivity of representative biological solutions in the 2-67 GHz range. Bioelectromagnetics 33(4): 346-355, 2012.
50. Chahat N, Zhadobov M, Alekseev S, Sauleau R: Human skin-equivalent phantom for on-body antenna measurements in 60 GHz band. Electronic Lett 48(2), 2012.
51. Chahat N, Zhadobov M, Sauleau R, Alekseev SI: New method for determining dielectric properties of skin and phantoms at millimeter waves based on heating kinetics. IEEE Trans Microwave Theory Tech 60(3): 827-832, 2012.
52. Алексеев СИ, Зискин МС, Фесенко ЕЕ: Частотная зависимость нагрева кожи человека при облучении миллиметровыми волнами. Биофизика 57(1), 110-114, 2012.

Подписано в печать: 06.03.2013

Заказ № 8203 Тираж - 100 экз.

Печать трафаретная.

Типография «11-й ФОРМАТ»

ИНН 7726330900

115230, Москва, Варшавское ш., 36

(499) 788-78-56

www.autoreferat.ru